

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
УФИМСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
НАУЧНЫЙ СОВЕТ ПО БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
ФЕДЕРАЛЬНЫЕ ГОСУДАРСТВЕННЫЕ БЮДЖЕТНЫЕ
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ И ГЕНЕТИКИ
УФИМСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
им. АКАДЕМИКОВ М. М. ШЕМЯКИНА и Ю. А. ОВЧИННИКОВА
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

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

Уфа, 11-15 июня 2013 г.

МАТЕРИАЛЫ СИМПОЗИУМА

УФА, 2013

УДК 577.112
ББК 28.072
Б 43

ОРГКОМИТЕТ

Иванов В.Т. (председатель), Вахитов В.А. (зам. председателя), Мясоедов Н.Ф., Леонтьева Е.В., Бахтизин Р.Н., Бикбулатова С.М., Габитов И.И., Гречкин А.Н., Дейгин В.И., Джемилев У.М., Ефремов Р.Г., Карпов В.Л., Костров С.В., Липкин В.М., Мирошников А.И., Немова Н.Н., Середенин С.Б.

Б 43 VI Российский симпозиум «Белки и пептиды»: Материалы симпозиума. – Уфа: ИСЭИ УНЦ РАН, 2013. – 298 с.

ISBN 978-5-904122-71-3

В сборнике опубликованы материалы VI Российского симпозиума «БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ», проходящего в г. Уфа Республики Башкортостан, 11-15 июня 2013 г.

В сборнике представлены тезисы докладов в соответствии с тематическими секциями симпозиума: «Методы разделения, очистки и анализа первичной структуры. Выделение новых природных объектов. Пептидомика. Протеомика», «Методы синтеза, химическая модификация. Белковая инженерия», «Физико-химические и расчетные методы исследования. Пространственная структура», «Биологическая активность. Взаимосвязь «структура – функция», «Химия и биология ферментов», «Инновационные лекарственные средства на основе пептидов и белков. Механизмы действия».

Предназначен для ученых, специалистов, аспирантов и студентов интересующихся современными проблемами и достижениями биоорганической химии и биохимии.

УДК 577.112
ББК 28.072

ISBN 978-5-904122-71-3

© Авторы, 2013
© ИБГ УНЦ РАН, 2013
© ИСЭИ УНЦ РАН, 2013

СИМПОЗИУМ ОРГАНИЗОВАН ПРИ ФИНАНСОВОЙ ПОДДЕРЖКЕ

- Правительства Республики Башкортостан
- Президиума Российской академии наук
- Академии наук Республики Башкортостан
- Отделения биологических наук РАН
- Российского фонда фундаментальных исследований

ГЕНЕРАЛЬНЫЙ СПОНСОР



GE Healthcare Life Sciences
www.gelifesciences.com

ГЛАВНЫЕ СПОНСОРЫ



ООО «Биоген-Аналитика»
www.bga.su



ТЕХНОИНФО ЛИМИТЕД
www.technoinfo.ru



ООО «Диаэм»
www.dia-m.ru

СПОНСОРЫ



ООО «Бекмен Культер»
www.beckmancoulter.ru



ООО «Спектроника»
www.spektronika.ru



Life Technologies
www.lifetechnologies.com



ООО «Био-Рад Лаборатории»
www.bio-rad.com



ИНТЕРТЕК ТРЕЙДИНГ КОРПОРЕЙШН
www.intertech-corp.ru



ООО «ТД ГалаХим»
www.galachem.ru



ООО «Аналит Продактс»
www.analit-spb.ru



ООО «Компания Хеликон»
www.helicon.ru



ЗАО «ИНПЦ «Пептоген»
www.peptogen.ru



www.4life.com



НВП БашИнком
ООО НВП «БашИнком»
www.bashinkom.ru



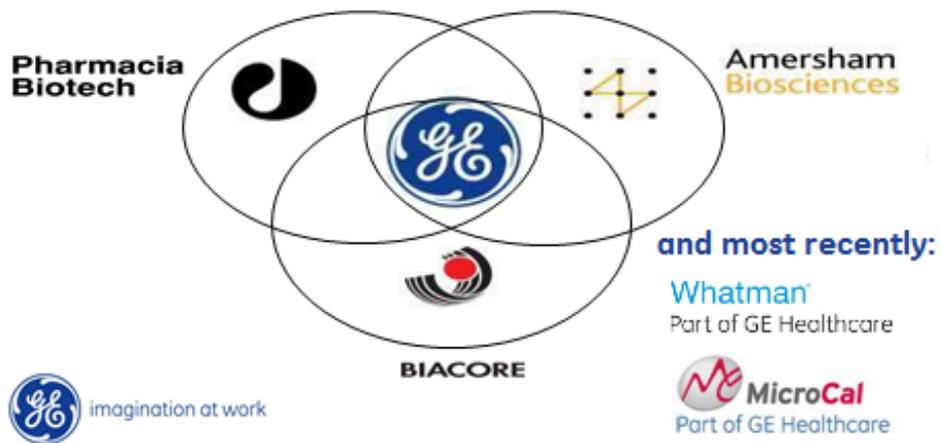
ООО «ИнтерАналит-Регион»
www.analyt.ru



Уфимская Химическая Компания

ЗАО «Уфимская Химическая Компания»
www.ufacc.ru

GE Healthcare Life Sciences is...



БиоГен-Аналитика



**биотехнологическое,
аналитическое
и лабораторное
оборудование**

- Центрифуги
- Автоматизированные системы
- Станции пробоподготовки
- Клеточные сортеры
- Анализаторы клеток и частиц
- Селекция клеток и колоний
- Микроскопы
- Автоматизированные системы анализа микроскопных изображений
- Микроскоп-цитофлуориметры
- Цитофлуориметры
- Гель-электрофорез
- Системы гель-документации
- Капиллярный электрофорез
- Системы выделения ДНК, РНК, белков
- Термоциклеры
- Секвенаторы
- Ридеры
- Реагенты Promega
- Генетический анализатор MALDI-TOF
- Оборудование для протеомики
- Системы молекулярной визуализации in vivo
- Конфокальный зондовый микроскоп для исследований in vivo
- Ультразвуковые системы для исследований in vivo
- Системы для вивариев
- Оборудование для исследования жизнедеятельности растений и окружающей среды
- Общелабораторное оборудование



ООО «БиоГен-Аналитика»
115093, Москва, Партийный пер, д.1, корп. 58, стр.1
+7 (495) 661 49 69; +7 (495) 220 94 85
84956614969@bga.su
www.bga.su



www.bga.su

ДИА•М



25

Москва
ул. Космонавта Волкова, 10
тел./факс: (495) 745-0508
e-mail: info@dia-m.ru

Новосибирск
пр. Ак. Лаврентьева, 6/1
тел./факс: (383) 328-0048
e-mail: nsk@dia-m.ru

Казань
Оренбургский тракт 20, оф. 217
тел./факс: (843) 277-6040
e-mail: kazan@dia-m.ru

www.dia-m.ru



Система **Капиллярного электрофореза Beckman Coulter**

PA 800 Plus – современный и надежный инструмент с большими аналитическими возможностями*



- ✓ Модульная система, идеально подходящая для исследования белков и пептидов
- ✓ В системе реализованы различные методы капиллярного электрофореза для анализа биомолекул:
 - электрофорез в SDS-геле;
 - изоэлектрическое фокусирование;
 - зонный электрофорез.
- ✓ Позволяет использовать различные типы детекторов
- ✓ Соответствует всем требованиям контроля качества фармацевтической и пищевой промышленности
- ✓ С помощью готовых к использованию наборов решает широкий круг задач
- ✓ Проста в обучении и обслуживании

* Прибор предназначен только для лабораторного использования, не для диагностического применения.
Прибор внесен в Государственный реестр средств измерений, № Госреестра 51458-12.

ООО «Бекмен Култер»
109004, Москва, ул. Станиславского, д.21, стр.3
E-mail: beckman.ru@beckman.com
Тел.: +7(495)984-67-30
Факс: +7(495)984-67-31



ЗАО «Инновационный научно-производственный центр «Пептоген» основан в 2005 году с участием Института молекулярной генетики РАН – одним из ведущих научных центров РФ в области биохимии и биотехнологии.

ЗАО «ИНПЦ «Пептоген» – динамично развивающаяся российская компания, выпускающая лекарственные препараты нового поколения на основе регуляторных пептидов, полный цикл производства находится на территории РФ. Под руководством ИМГ РАН компания осуществляет активную научно-исследовательскую деятельность по разработке принципиально новых высокотехнологичных лекарственных препаратов, направленных на лечение социально значимых заболеваний в области неврологии, офтальмологии, психиатрии. Продукция компании входит в «Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов» и экспортируется в страны СНГ и Юго-Восточной Азии.

ЗАО «ИНПЦ «Пептоген» – член «Ассоциации Российских Фармацевтических Производителей».



Семакс – единственный в мире препарат с доказанным комплексным нейропротекторным, нейрометаболическим, нейротрофическим, ноотропным, антиоксидантным, адаптогенным и антиастеническим действием

СЕМАКС® 0,1%

- Начальные нарушения памяти и интеллекта
- Астено-невротические расстройства
- Энцефалопатии, хроническая ишемия мозга
- Транзиторные ишемические атаки и их профилактика
- Постнаркозные состояния и состояния после нейрохирургических операций
- Черепно-мозговая травма
- Восстановление после инсульта и профилактика инсульта



СЕМАКС® 1%

- Инсульт



СЕЛАНК®

Первый в мире пептидный анксиолитик, обладающий комплексным нормализующим психотропным действием:

- анксиолитическим,
- антидепрессивным,
- антиастеническим
- ноотропным

Семакс и Селанк – первые представители класса регуляторных пептидов, применяемые интраназально:

- Высокая биодоступность (Семакс 70%, Селанк 92,8%)
- Доставка лекарств непосредственно к клеткам головного мозга через 2-5 минут после введения
- Быстрота развития системного эффекта: пиковая концентрация препарата достигается через 30 минут после введения
- Отсутствие межлекарственного взаимодействия
- Удобство и простота применения
- Экономическая выгода: низкие дозировки, отсутствие потребности в квалифицированном персонале и расходных материалах

123182 РФ, Москва, пл. Ак. Курчатова, 2 | Тел.: +7 (499) 196-48-61 | пептоген.рф

ООО «Био-Рад Лаборатории»

117105, Москва, Варшавское шоссе, д.9 стр. 1Б,

Офисный комплекс Loft - квартал "ДМ - 1867"

ТЕЛ: (495) 721-1404 ФАКС: (495) 721-1412

postmaster@bio-rad.ru

The logo for BIO-RAD, featuring the words "BIO-RAD" in white, bold, sans-serif capital letters inside a green rounded rectangular border.

www.bio-rad.com

Компания **Bio-Rad Laboratories, Inc USA** (Био-Рад, США) является одним из мировых лидеров производства оборудования и реагентов для научных исследований. В рамках взаимодействия с научными, медицинскими, биотехнологическими и образовательными организациями Био-Рад предлагает современные технологии, оборудование и реагенты.

Геномные технологии (*генная экспрессия и генная модуляция*)

- **Аmplификация** (*уникальный спектр приборов*)
- **Цифровой капельный ПЦР третьего поколения**
- **Гель-электрофорез** (*горизонтальный и вертикальный форматы*)
- **Experion™** (*автоматизированная система капиллярного электрофореза нуклеиновых кислот и белков*)
- **Системы визуализации** (*колориметрия, флюоресценция, хемилюминесценция, хемифлюоресценция, радиоизотопные метки*)
- **Перенос генов** (*электропорация, баллистика, химическая трансфекция*)
- **Bio-Plex 3D™** (*технология «Жидких биочипов», анализ до 500 сиквенс-специфических событий*)

Протеомные технологии (*структурная и функциональная протеомика*)

- **BioLogic DuoFlow™** (*модульная гибкая система для биохроматографии*)
- **Широкий спектр колонок и носителей**
- **Profinia™** (*автоматизированная хроматографическая система очистки рекомбинантных белков*)
- **Pofinity eXact™** (*уникальная бесприборная технология аффинной очистки рекомбинантных белков, свободных от тэг-носителей*)
- **ProteoMiner™** (*уникальная система процессинга белковых комплексов*)
- **Системы аналитического и препаративного электрофореза (1-D, 2-D)**
- **Rotofor™** (*аналитический и препаративный изоэлектрофокус*)
- **Оборудование для анализа и процессинга 2-D протеомных карт**
- **Bio-Plex 200 и Bio-Plex 3D™** (*мультиплексный количественный анализ биомолекул, панели для определения цитокинового профиля, белков сигнальной трансдукции, реагенты для создания собственных уникальных наборов*)
- **ProteOn XPR36™ Protein Interaction Array System** (*матричный интерактивный анализ биомолекулярных взаимодействий методом поверхностного плазмодного резонанса*)
- **TC10™** (*слайд-опосредованный счетчик клеток*)



Life Technologies объединяет Applied Biosystems, Invitrogen, Ambion, Gibco, Molecular Probes, Ion Torrent - мировых лидеров в производстве самого современного оборудования и реактивов для широкого спектра научных исследований, молекулярной медицины и ДНК-идентификации личности.

Это глобальная компания, которая предлагает приборы, реактивы, расходные материалы и сервисное обслуживание исследователям по всему миру. Клиентами Life Technologies являются исследователи в области молекулярной и клеточной биологии, репродуктивной и персонализированной медицины, молекулярной диагностики, криминалистики XXI века, а также ученые, работающие в сфере сельского хозяйства и окружающей среды.



Продукция Life Technologies используется для поиска и разработки новых лекарств, в токсикологии и криминалистике, для диагностики заболеваний, в клинической клеточной терапии и производстве биопрепаратов. Компания Life Technologies является сторонником глобальной социальной ответственности. Фонд Life Technologies выделяет миллионы долларов, чтобы сделать мир науки более привлекательным и значимым в глазах общества.

Адрес российского представительства:
117485, г. Москва, ул. Обручева д. 30/1, строение 2
тел. +7 (495) 6516797

www.lifetechnologies.com
e-mail: Russian.office@lifetech.com

СОДЕРЖАНИЕ**ТЕЗИСЫ ПЛЕНАРНЫХ ДОКЛАДОВ**

	Стр.
ПЕПТИДНЫЕ МОДУЛЯТОРЫ ИОНОТРОПНЫХ РЕЦЕПТОРОВ Гришин Е.В.	36
ПАНПРОТЕОМ МИКРОБОВ Говорун В.М.	37
КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА БАКТЕРИАЛЬНЫХ И ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ РИБОСОМНЫХ КОМПЛЕКСОВ Юсупов М.М.	38
СТРУКТУРНЫЕ МОТИВЫ И ИХ РОЛЬ В СВРАЧИВАНИИ БЕЛКОВ Ефимов А.В.	39
ЯМР ВЗГЛЯД НА СПИРАЛЬ-СПИРАЛЬНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В ТРАНСМЕБРАННЫХ БЕЛКАХ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ФУНКЦИЮ Арсеньев А.С., Минеев К.С., Парамонов А.С., Надеждин К.Д., Дубинный М.А., Лесовой Д.М., Бочаров Э.В., Шенкарев З.О., Гончарук С.А., Бочарова О.В.	40
ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ БЕЛКИ. ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ВЗАИМОСВЯЗЬ Плетнев В. З.	41
СТРУКТУРНАЯ БИОЛОГИЯ МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ Горделий В.И.	42
ПЕПТИДЫ И ЛЕКАРСТВА XXI ВЕКА Мясоедов Н.Ф.	43
ПЕПТИДЫ И РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ Хавинсон В.Х., Ванюшин Б.Ф.	44
КАЛЬПАИН-КАЛЬПАСТАТИНОВАЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА КЛЕТКИ: НАСЛЕДСТВЕННЫЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ Немова Н.Н., Лысенко Л.А., Канцорова Н.П., Рендаков Н.Л.	45
УРОКИНАЗНАЯ СИСТЕМА: РОЛЬ МУЛЬТИДОМЕННОЙ СТРУКТУРЫ В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА И РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ Ткачук В.А., Плеханова О.С., Парфенова Е.В.	46

ТЕЗИСЫ СЕКЦИОННЫХ ДОКЛАДОВ**СЕКЦИЯ 1. Методы разделения, очистки и анализа первичной структуры.
Выделение новых природных объектов. Пептидомика. Протеомика**

АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ ПШЕНИЦЫ Одинцова Т.И., Егоров Ц.А.	49
α -ГАРПИНИНЫ, СЕМЕЙСТВО ЗАЩИТНЫХ ПЕПТИДОВ РАСТЕНИЙ Василевский А.А., Гришин Е.В., Егоров Ц.А.	50
ПЕПТИДОМ ПЛАЗМЫ И СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА - РАЗРАБОТКА МЕТОДА АНАЛИЗА Зиганшин Р.Х., Ковальчук С.И., Иванова О.М., Азаркин И.В., Арапиди Г.П., Говорун В.М., Иванов В.Т.	51
АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ПЕПТИДЫ ИЗ ЯДА МУРАВЬЯ <i>Ectatomma quadridens</i> Козлов С.А., Плузжников К.А., Василевский А.А., Гришин Е.В.	52
ПРИРОДНЫЕ МОДУЛЯТОРЫ ПРОТОНАКТИВИРУЕМОГО КАНАЛА ASIC3 Андреев Я.А., Осмаков Д.И., Козлов С.А., Гришин Е.В.	53
ПЕПТИДНЫЕ НЕЙРОТОКСИНЫ В ЯДАХ ЗМЕЙ Уткин Ю.Н., Осипов А.В., Старков В.Г., Андреева Т.В., Кашеверов И.Е., Крюкова Е.В., Жмак М.Н., Вульфийус Е.А., Цетлин В.И.	54
АНАЛИЗ ПЕПТИДОМА КЛЕТОК <i>PHYSCOMITRELLA PATENS</i> . Фесенко И.А., Середина А.В., Хазигалеева Р.А., Мажейка И.С., Ковальчук С.И., Кострюкова Е.С., Алексеев Д.Г., Манолов А.И., Говорун В.М., Иванов В.Т.	55
БЕЛКИ ВТОРИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК: АНАЛИЗ МЕТОДАМИ ПРОТЕОМИКИ В РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЯХ СТЕБЛЯ ЛЬНА Ибрагимова Н.Н., Мокшина Н.Е., Горшкова Т.А.	56
СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В МИНИМАЛЬНОЙ КЛЕТКЕ Фисунов Г.Ю., Горбачёв А.Ю., Алексеев Д.Г., Мазин П.В., Побегуц О.В., Горшкова Т.Н., Израельсон М.А., Ковальчук С.И., Ванюшкина А.А., Карпова И.Ю., Семашко Т.А., Камашев Д.Э., Кострюкова Е.С., Говорун В.М.	57
СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ <i>HELICOBACTER PYLORI</i> Алексеев Д.Г., Алтухов И.А., Побегуц О.В., Ковальчук С.И., Говорун В.М.	58
КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ БИОТРАНСФОРМАЦИИ ПЕПТИДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАВНОМЕРНО МЕЧЕННЫХ ТРИТИЕМ И ДЕЙТЕРИЕМ СОЕДИНЕНИЙ. Дадаян А.К., Золотарев Ю.А., Козик В.С., Зиганшин Р.Х., Бочаров Э.В., Назимов И.В., Чижов Ф.О., Мясоєдов Н.Ф.	59

СЕКЦИЯ 2. Методы синтеза, химическая модификация. Белковая инженерия

- ЦИКЛОТЕХНОЛОГИЯ – УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ПОДХОД К ПОЛУЧЕНИЮ
ПЕРОРАЛЬНО АКТИВНЫХ ПЕПТИДОМИМЕТИКОВ 61
Дейгин В.И., Ксенофонтова О.Б., Ефремов Е.С., Горячева А.С.,
Измествьева О.С., Лузянина А.А., Саенко А.С.
- НАНОБИОГИБРИДНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ОДНОДОМЕННЫХ
АНТИТЕЛ И КВАНТОВЫХ ТОЧЕК ДЛЯ ПРОТЕОМИКИ И ДИАГНОСТИКИ 62
Олейников В.А., Мочалов К.Е., Артемьев М.В., Чистяков А.А., Суханова А.В.,
Набиев И.Р.
- ТВЁРДОФАЗНЫЙ СИНТЕЗ СУПЕРАГОНИСТОВ ГОРМОНА LH-RH С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРОИЗВОДНОГО СЕРИНА, ЗАЩИЩЁННОГО ПО
БОКОВОЙ ЦЕПИ ПОСРЕДСТВОМ ОКСАЗОЛИДИНОВОГО ЦИКЛА 63
Азев В.Н., Мустаева Л.Г., Горбунова Е.Ю., Чулин А.Н., Родионов И.Л.

СЕКЦИЯ 3. Физико-химические и расчетные методы исследования.**Пространственная структура**

- РОЛЬ ЛИПИДНОГО ОКРУЖЕНИЯ В СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКОМ
ПОВЕДЕНИИ ПЕПТИДОВ И БЕЛКОВ В МЕМБРАНАХ: РЕЗУЛЬТАТЫ
ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ 65
Полянский А.А., Кузнецов А.С., Волынский П.Е., Нольде Д.Е., Ефремов Р.Г.
- РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ИЗУЧЕНИЯ СТРУКТУРНЫХ ПЕРЕСТРОЕК В
СОСТАВЕ ОДИНОЧНЫХ ДНК-БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ 66
Феофанов А.В., Кудряшова К.С., Ефременко А.В., Чертков О.В., Пестов Н.А.,
Студитский В.М., Кирпичников М.П.
- МНОГОЧАСТИЧНАЯ КОМПЬЮТЕРНАЯ МОДЕЛЬ БЕЛОК-БЕЛКОВЫХ
ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ 67
Коваленко И.Б., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б.
- НОВЫЙ МЕТОД ЛОКАЛИЗАЦИИ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ РНК
НА ПОВЕРХНОСТИ БЕЛКОВ 68
Никулин А.Д., Леконцева Н.В., Мурина В.Н.
- ФАЗОВАЯ НЕОДНОРОДНОСТЬ РАСТВОРОВ ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ 69
Рожков С.П., Горюнов А.С.
- ОПТИМИЗАЦИЯ МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ БЕЛКА
АЛЬБЕБЕТИНА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССА
АМИЛОИДООБРАЗОВАНИЯ 70
Егорова А.Г., Балобанов В.А., Катина Н.С., Васильев В.Д., Мачулин А.В.,
Елисеева И.А., Ильина Н.Б., Черткова Р.В., Долгих Д.А., Бычкова В.Е.
- «БЕЛКОВАЯ ТОПОГРАФИЯ» — СПОСОБ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ СВЯЗИ
СТРУКТУРА–ФУНКЦИЯ В БИОАКТИВНЫХ ПЕПТИДАХ 71
Чугунов А.О., Коромыслова А.Д., Ефремов Р.Г.
- МЕТОДЫ СТРУКТУРНОЙ БИОЛОГИИ В РАЦИОНАЛЬНОМ
КОНСТРУИРОВАНИИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
НА ОСНОВЕ ЛИГАНДОВ УРИДИНФОСФОРИЛАЗ 72
Лашков А.А., Сотниченко С.Е., Прокофьев И.И., Балаев В.В., Михайлов А.М.

СЕКЦИЯ 4. Биологическая активность. Взаимосвязь «структура – функция»

УСТРАНЕНИЕ ОСНОВНЫХ СИМПТОМОВ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПРИ СВЯЗЫВАНИИ ПЕПТИДОВ С БЕЛКАМИ И ДНК Савватеева-Попова Е.В., Лушников С.Г., Щеголев Б.Ф., Никитина Е.А., Токмачева Е.В., Захаров Г.А., Журавлев А.В., Паялина Т.Л., Теремецкая И.Ю., Медведева А.В., Хавинсон В.Х.	74
КОРРЕКТИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ГЕПТАПЕПТИДА СЕМАКС НА ПАРАМЕТРЫ СОЦИАЛЬНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КРЫС, ПОДВЕРГНУТЫХ ПРЕНАТАЛЬНОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ВЫСОКОЙ ДОЗЫ ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ Дубынин В.А., Малышев А.В., Разумкина Е.В., Рогозинская Э.Я.	75
БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ С-КОНЦЕВОГО ФРАГМЕНТА АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНА И ЕГО СТРУКТУРНЫХ АНАЛОГОВ Воскресенская О.Г., Белякова А.С., Дударёнок А.П., Голубович В.П., Каменский А.А.	76
БЕТА-ИЗГИБЫ ПЕТЛЕОБРАЗНЫХ СТРУКТУР НЕЙРОТРОФИНОВ КАК ОСНОВА ДЛЯ КОНСТРУИРОВАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ Гудашева Т.А., Середенин С.Б.	77
СИНТЕТИЧЕСКИЙ ПЕПТИД ОКТАРФИН КАК ИНСТРУМЕНТ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕОПИОИДНОГО ДЕЙСТВИЯ БЕТА-ЭНДОРФИНА Наволоцкая Е.В., Некрасова Ю.Н.	78
ПЕПТИДНЫЙ ФРАГМЕНТ (29-40) ХЕМОКИНА МСР-1 УСКОРЯЕТ РАНОЗАЖИВЛЕНИЕ Красникова Т.Л., Беспалова Ж.Д., Сидорова М.В., Азьмуко А.А., Арефьева Т.И., Рулева Н.Ю., Гаврилова С.А., Ахметшина М.Р., Бердалин А.Б., Буравков С.В.	79
CYS-ПЕТЕЛЬНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ: ПОИСК И СОЗДАНИЕ НОВЫХ ЛИГАНДОВ Кашеверов И.Е., Жмак М.Н., Кудрявцев Д.С., Шулепко М.А., Люкманова Е.Н., Цетлин В.И.	80
НИКОТИНОВЫЕ ХОЛИНОРЕЦЕПТОРЫ – ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МИШЕНИ ФОСФОЛИПАЗ А2 ИЗ ЯДОВ ЗМЕЙ Вульфийус Е.А., Старков В.Г., Кашеверов И.Е., Цетлин В.И., Уткин Ю.Н.	81
РОЛЬ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИЙ Т-ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА Вахитова Ю.В., Зайнуллина Л.Ф., Фаткуллина У.Ш., Кудояров Э.Р., Вахитов В.А.	82
ПЕПТИДНЫЙ МИМЕТИК ГМДП И ЕГО МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИШЕНИ Ламан А.Г., Савинов Г.В., Шепеляковская А.О., Бозиев Х.М., Бровко Ф.А., Родионов И.Л., Чулин А.Н., Елисеева И.А., Гурьянов С.Г., Овчинников Л.П., Лябин Д.Н., Свирщевская Е.В., Иванов В.Т.	83
АРГ-Х АКТИВНОСТЬ ПРОТЕОЛИЗА В КОМПЛЕКСАХ КИСЛЫХ И ОСНОВНЫХ БЕЛКОВ СУПРАСТРУКТУР ПОПУЛЯЦИИ КЛЕТОК В РАЗНЫХ ФАЗАХ РОСТА ПЕРИОДИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ <i>E. COLI</i> Тропынина Т.С., Иванов Р.С., Вафина Г.Х., Иванова Э.А.	84

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ОЛИГОПЕПТИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ БЕЛКОВ Замятнин А.А.	85
ИММУННЫЕ ПРОТЕАСОМЫ В РАЗВИТИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ КРЫСЫ Шарова Н.П., Карпова Я.Д., Люпина Ю.В., Астахова Т.М., Степанова А.А., Ерохов П.А.	86
ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ПРОТЕАСОМ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ БЕСТИМУСНЫХ МЫШЕЙ VALB/C (NUDE) Люпина Ю. В., Орлова А. Ш., Астахова Т. М., Шарова Н. П.	87
ИНГИБИТОР РС КАМЧАТСКОГО КРАБА, СВОЙСТВА, СТРУКТУРА, ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С КУЛЬТУРОЙ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК Руденская Г.Н.	88
АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО КАТИОННОГО ПЕПТИДА ВАРНЕРИНА Коробов В.П., Полюдова Т.В., Лемкина Л.М.	89
О ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ МЕЖДУ МОТОРНЫМ И РЕГУЛЯТОРНЫМ ДОМЕНАМИ ГОЛОВКИ МИОЗИНА, ПРОИСХОДЯЩИХ В ПРОЦЕССЕ АТФазной РЕАКЦИИ Левицкий Д.И., Марков Д.И., Николаева О.П., Падалко Н.С.	90
ГЛИПРОЛИНЫ: СТРУКТУРА, БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ Шрам С.И., Мясоедов Н.Ф.	91
ЦИСТЕИН-БОГАТЫЙ БЕЛОК КАРЛАВИРУСА: РОЛЬ ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С РАСТЕНИЕМ-ХОЗЯИНОМ Соловьев А.Г., Луховицкая Н.И., Соловьева А.Д., Савенков Е.И.	92
НОВЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ МОДЕЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ АНАЛИЗА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЕПТИДОВ РАСТЕНИЙ Скрипников А.Ю., Гончарова Е.А., Никитин В.Б.	93
ВЛИЯНИЕ КРАУДИНГА НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МАЛЫХ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА С БЕЛКОМ-МИШЕНЬЮ Чеботарева Н.А., Роман С.Г., Еронина Т.Б., Филиппов Д.О., Курганов Б.И.	94
СЕКЦИЯ 5. Химия и биология ферментов	
УНИКАЛЬНАЯ СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ АТР-ЗАВИСИМЫХ Lon-ПРОТЕАЗ ПОДСЕМЕЙСТВА A Ротанова Т.В.	96
ДОМЕННАЯ СТРУКТУРА ПСИХРОФИЛЬНОЙ ПРОТЕИНАЗЫ ИЗ <i>SERRATIA PROTEAMACULANS</i> (PSP). Михайлова А.Г., Горленко В.А., Гришкова М.В., Овчинникова М.В., Румш Л.Д.	97
МОДИФИКАЦИЯ РЕКОМБИНАНТНОЙ IgA1 ПРОТЕАЗЫ <i>N. MENINGITIDIS</i> Зинченко А.А., Гордеева Е.А., Мелихова Т.Д., Нокель Е.А., Серова О.В., Аллилуев А.П., Котельникова О.В., Дрожжина Е.Ю., Ситникова Е.А., Румш Л.Д.	98

МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ И АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩИЙ ФЕРМЕНТ ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМЕ ШЕЙКИ МАТКИ Соловьева Н.И., Рыжакова О.С., Кугаевская Е.В., Андреева Ю.Ю., Завалишина Л.Э.	99
АКТИН-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ, ИХ РЕГУЛЯЦИЯ И СВЯЗЬ С ИНВАЗИЕЙ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ Кондакова И.В., Юнусова Н.В., Коваль В.Д., Коломиец Л.А., Чернышова А.Л.	100
ГЛУТАМИН- И ПРОЛИН-СПЕЦИФИЧНЫЕ ПЕПТИДАЗЫ НАСЕКОМЫХ-ВРЕДИТЕЛЕЙ ЗЕРНОВЫХ ЗАПАСОВ И АУТОИММУННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ ЦЕЛИАКИЯ Элпидина Е.Н., Филиппова И.Ю., Гоптарь И.А., Семашко Т.А., Мартынов А.Г., Смирнова Ю.А., Воротникова Е.А., Шарикова В.Ф.	101
ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА РЕЦЕПЦИИ ЭТИЛЕНА МЦП-1 НА ФЕРМЕНТЫ ПРО-/АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ГРИБНОМ ПАТОГЕНЕЗЕ Веселова С.В., Нужная Т.В., Максимов И.В.	102
СЕКЦИЯ 6. Инновационные лекарственные средства на основе пептидов и белков. Механизмы действия	
ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКОВОГО ОСТЕОИНДУКТОРА ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОКОМПЗИТНОГО МАТРИКСА ДЛЯ РЕКОНСТРУКТИВНОЙ И ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ ОСТЕОПЛАСТИКИ Есипов Р.С., Степаненко В.Н., Ярославцева А.К., Никонова Ю.А., Селезнева И.И.	104
МОДИФИКАЦИЯ ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА КРОВИ С ПОМОЩЬЮ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ЦИКЛОФИЛИНА А Морозов Ю.А., Калинина А.А., Хромых Л.М., Казанский Д.Б.	105
ПЕПТИДЫ В КОРРЕКЦИИ СИМПТОМОВ СИНДРОМА ХРОНИЧЕСКОЙ УСТАЛОСТИ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ (ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ) Соллертинская Т.Н., Шорохов М.В., Мясоедов Н.Ф.	106
СОЧЕТАННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ СЕЛАНКА И БЕНЗОДИАЗЕПИНОВЫХ ТРАНКВИЛИЗАТОРОВ – НОВАЯ СХЕМА ТЕРАПИИ ТРЕВОЖНЫХ РАССТРОЙСТВ Кост Н.В., Мешавкин В.К., Терещенко О.Н., Соколов О.Ю., Нестерова А.В., Медведев В.Э., Вьюнова Т.В., Мясоедов Н.Ф.	107
ИССЛЕДОВАНИЕ ОТСТАВЛЕННЫХ ЭФФЕКТОВ НЕГАТИВНЫХ НЕОНАТАЛЬНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ И ПОИСК ПУТЕЙ ИХ КОРРЕКЦИИ Левцкая Н.Г., Глазова Н.Ю., Себенцова Е.А., Манченко Д.М., Кудрин В.С., Долотов О.В., Мясоедов Н.Ф.	108
СЕМАКС ЗАЩИЩАЕТ СЕРДЦЕ ОТ РЕПЕРFUЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ЧЕРЕЗ СДЕРЖИВАНИЕ АКТИВНОСТИ СИМПАТИЧЕСКОГО ОТДЕЛА ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ Гаврилова С.А., Бердалин А.Б., Голубева А.В., Беневоленская А.Д., Буравков С.В., Кошелев В.Б.	109

ТЕТРАПЕПТИД LYS-GLU-ASP-TRP РЕГУЛИРУЕТ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	110
Хавинсон В.Х., Ашапкин В.В., Линькова Н.С., Тарновская С.И., Ванюшин Б.Ф.	
ЛАКТАПТИН - ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ПЕПТИД ЖЕНСКОГО МОЛОКА	111
Рихтер В.А., Коваль О.А., Каледин В.И., Фомин А.С., Потапенко М.О., Кулигина Е.В., Семенов Д.В.	
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПЕПТИДНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИИ БРОНХИАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ПРИ ПАТОЛОГИИ	112
Башарина В.С., Линькова Н.С., Дудков А.В.	
РАЗРАБОТКА НОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ПЕПТИДА hLDF-6 ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ И ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ	113
Липкин В.М., Богачук А.П., Мурашев А.Н., Ржевский Д.И., Азев В.И., Сторожева З.И., Шерстнев В.В., Золотарев Ю.А., Ковалев Г.И., Сурина Е.А., Смирнова Е.В.	
ТЕТРАПЕПТИД КОРТАГЕН КОРРЕКТИРУЕТ ОСНОВНЫЕ СИМПТОМЫ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НА МОДЕЛИ ДРОЗОФИЛЫ	114
Никитина Е.А., Токмачева Е.В., Медведева А.В., <u>Попов А.В.</u> , Савватеева-Попова Е.В.	
ЭФФЕКТЫ МЕЛАНКОРТИНОВ В МОДЕЛЯХ ДЕПРЕССИИ	115
Долотов О.В., Яценко К.А., Иноземцева Л.С., Марков Д.Д., Гривенников И.А.	

ТЕЗИСЫ СТЕНДОВЫХ ДОКЛАДОВ

СЕКЦИЯ 1. Методы разделения, очистки и анализа первичной структуры. Выделение новых природных объектов. Пептидомика. Протеомика

1. ВЛИЯНИЕ ИЗАТИНА НА ПРОФИЛЬ ИЗАТИН-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ МОЗГА МЫШИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАРКИНСОНИЗМЕ	119
Бунеева О.А., Копылов А.Т., Згода В.Г., Неробкова Л.Н., Капица И.Г., Иванова Е.А., Медведев А.Е.	
2. ВЫДЕЛЕНИЕ КОМПЛЕКСА БЕЛКОВ КРОВИ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩЕГО СОПРЯЖЕННЫЙ ТРАНСПОРТ ГОРМОНОВ В КРОВИ ЧЕЛОВЕКА	120
Гарипова М.И., Усманова Р.Р., Гарипов О.С., Факиева С.А.	
3. НОВАЯ БИОИНЖЕНЕРНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ПОИСКА И ИЗУЧЕНИЯ ПЕПТИДНЫХ БЛОКАТОРОВ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ Kv1.3 И Kv1.1	121
Некрасова О.В., Кудряшова К.С., Василевский А.А., Королькова Ю.В., Кузьменков А.И., Уткин Ю.Н., Гришин Е.В., Феофанов А.В., Кирпичников М.П.	

-
- | | | |
|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4. | САЛИЦИЛАТ- И ЖАСМОНАТ ИНДУЦИРОВАННОЕ ИЗМЕНЕНИЕ СПЕКТРА ЗАЩИТНЫХ БЕЛКОВ В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ СЕПТОРИОЗЕ
Яруллина Л.Г., Бурханова Г.Ф., Заикина Е.А., Ахатова А.Р., Касимова Р.И. | 122 |
|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|

СЕКЦИЯ 2. Методы синтеза, химическая модификация. Белковая инженерия

- | | | |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5. | ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ИНСУЛИНА ЧЕЛОВЕКА
Нокель Е.А., Гордеева Е.А., Мелихова Т.Д., Зиганшин Р.Х., Красильщикова М.С., Шибанова Е.Д., Зинченко А.А. | 124 |
| 6. | ГИБРИДНЫЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ БЕЛКИ НА ОСНОВЕ TNF И 10FN3: ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА.
Петровская Л.Е., Шингарова Л.Н., Крюкова Е.А., Болдырева Е.Ф., Гапизов С.Ш., Лукашев Е.П., Литвинов И.С., Долгих Д.А., Кирпичников М.П. | 125 |
| 7. | КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНТИГЕН, МОДЕЛИРУЮЩИЙ ВНЕКЛЕТОЧНУЮ ЧАСТЬ МУСКАРИНОВОГО M2-РЕЦЕПТОРА, И ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С СЫВОРОТКАМИ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ИДИОПАТИЧЕСКИМИ АРИТМИЯМИ
Палькеева М.Е., Сидорова М.В., Молокоедов А.С., Азьмуко А.А., Беспалова Ж.Д., Шарф Т.В., Мамочкина Е.Н., Ефремов Е.Е. | 126 |
| 8. | КОНТРОЛИРУЕМОЕ ВВЕДЕНИЕ АЗИДОГРУПП В МОЛЕКУЛУ БЕЛКА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОНЬЮГАТОВ С БИОМОЛЕКУЛАМИ С ПОМОЩЬЮ РЕАКЦИИ 1,3-ДИПОЛЯРНОГО ЦИКЛОПРИСОЕДИНЕНИЯ
Прохоренко И.А., Апарин И.О., Михалёва М.А., Энгель С.Р., Коршун В.А., Устинов А.В. | 127 |
| 9. | НЕОЖИДАННОЕ ОБРАЗОВАНИЕ ДИСУЛЬФИДНОГО ДИМЕРА ПРИ ОБРАБОТКЕ ПЕПТИДИЛПОЛИМЕРА ТРИФТОРУКСУСНОЙ КИСЛОТОЙ
Сидорова М.В., Молокоедов А.С., Фрид Д.А., Бурячковская Л.И., Беспалова Ж.Д. | 128 |
| 10. | ДЕНДРИМЕРНЫЕ И МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ПЕПТИДЫ
Склярлов Л.Ю., Назимов И.В. | 129 |
| 11. | ЭКЗОНОВое КОНСТРУИРОВАНИЕ κДНК, ЭКСПРЕССИЯ И ВЫДЕЛЕНИЕ ДВУХ ИЗОФОРМ РЕНАЛАЗ ЧЕЛОВЕКА
Федченко В.И., Калошин А.А., Межевикина Л.М., Бунеева О.А., Медведев А.Е. | 130 |

**СЕКЦИЯ 3. Физико-химические и расчетные методы исследования.
Пространственная структура**

- | | | |
|-----|----------------------------------------------------------------------------|-----|
| 12. | УКЛАДКА SH3-ПОДОБНЫХ ДОМЕНОВ КАК КОМБИНАЦИЯ
Бражников Е.В., Ефимов А.В. | 132 |
|-----|----------------------------------------------------------------------------|-----|

13.	БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ КОНФОРМАЦИЯ ГЬ-115, ДИПЕПТИДНОГО АНАЛОГА ХОЛЕЦИСТОКИНИНА-4 Деева О.А., Колик Л.Г., Гудашева Т.А., Середенин С.Б.	133
14.	ВЫСОКОВАРИАБЕЛЬНЫЕ САЙТЫ И УЧАСТКИ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ БЕТА-ЦЕПЕЙ ГЕМОГЛОБИНОВ ЧЕЛОВЕКА И ДРУГИХ ПРИМАТОВ Костецкий П.В.	134
15.	ИЗУЧЕНИЕ СЫВОРОТОЧНЫХ АЛЬБУМИНОВ РАЗЛИЧНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПОЗВОНОЧНЫХ С ПОМОЩЬЮ СПЕКТРАЛЬНО-ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ЗОНДОВ Панова И.Г., Татиколов А.С.	135
16.	НОВЫЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ ПЕПТИДНЫЙ АНТИГЕН, МОДЕЛИРУЮЩИЙ ИММУНОДОМИНАНТНЫЙ ЭПИТОП 2-Й ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ПЕТЛИ β_1 -АДРЕНОРЕЦЕПТОРА. КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ, СИНТЕЗ, ИЗУЧЕНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ Бибилашвили Р.Ш., Сидорова М.В., Молокеедов А.С., Беспалова Ж.Д., Бочаров Э.В., Бозин Т.Н., Ефремов Е.Е., Шарф Т.В.	136
17.	МИЦЕЛЛООБРАЗОВАНИЕ И ВТОРИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕТА- КАЗЕИНА Файзуллин Д.А., Коннова Т.А., Эртле Т., Зуев Ю.Ф.	137
18.	КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ДЕФЕНЗИНОВ С ФОСФОЛИПИДНОЙ МЕМБРАНОЙ Хайрутдинов Б.И., Ермакова Е.А., Зуев Ю.Ф.	138
19.	СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕАКЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ L- ЦИСТЕИНА И L-МЕТИОНИНА В СВЯЗИ С ОБРАЗОВАНИЕМ СЕЛЕНСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ В ГРИБНОЙ КУЛЬТУРЕ Панкратов А.Н., Цивилева О.М., Цымбал О.А.	139
20.	ОПТИМИЗАЦИЯ КОНСТРУИРОВАНИЯ И ОТБОРА КОМБИНАТОРНЫХ БИБЛИОТЕК НА ОСНОВЕ ДОМЕНА ФИБРОНЕКТИНА Шингарова Л.Н., Петровская Л.Е., Крюкова Е.А., Болдырева Е.Ф., Долгих Д.А., Кирпичников М.П.	140

СЕКЦИЯ 4. Биологическая активность. Взаимосвязь «структура – функция»

21.	РОЛЬ ЭНДОГЕННОЙ АБК В РЕГУЛЯЦИИ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ УРОВНЯ 30 кДа ДЕГИДРИНА В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ КАДМИЕВОГО СТРЕССА Аллагулова Ч.Р., Ключникова Е.О., Масленникова Д.Р., Шакирова Ф.М.	142
22.	СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ - ОСНОВА СОЗДАНИЯ НОВЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ ВАЖНЫХ ВЕЩЕСТВ Андреева Л.А., Гривенников И.А., Левицкая Н.Г., Долотов О.В., Кошелев В.Б., Гаврилова С.А., Дубынин В.А., Сарычева Н.Ю., Мясоедов Н.Ф.	143

23.	ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ <i>NICOTIANA TABACSCUM L.</i> КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИЙ ЛЕКТИНА <i>GOL2 GALEGA ORIENTALIS</i> Чубукова О.В., Баймиев Ан.Х., Вершинина З.Р., Баймиев Ал.Х.	144
24.	КАНАЛ ПОРИНА 2 ОБЕСПЕЧИВАЕТ ПЕРЕНОС ЛИЗИНОВОЙ ТРАНСПОРТНОЙ тРНК (tRNA ^{Lys}) ИЗ ЦИТОЗОЛЯ В МАТРИКС МИТОХОНДРИЙ <i>SACCHAROMYCES CEREVISAE</i> Высоких М.Ю., Антоненко Ю.Н., Каменский П.А., Колесникова О.А., Рокицкая Т.И., Тарасов И., Ширтц Т., Энтелис Н.	145
25.	КОРРЕКЦИЯ ПРЕПАРАТОМ СЕМАКС НЕГАТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ НЕОНАТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ФЛУВОКСАМИНА Глазова Н.Ю., Мерчиева С.А., Андреева Л.А., Левицкая Н.Г., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф.	146
26.	МОДУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ 2-ОКСОГЛУТАРАТ-ДЕГИДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСА (ОГДК) У САМОК И САМЦОВ КРЫС В РАЗНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ Кулаковская Е.А., Граф А.В., Хиразова Е.Э., Маслова М.В., Крушинская Я.В., Соколова Н.А., Буник В.И.	147
27.	ОЛИГОПЕПТИДНЫЕ ФРАГМЕНТЫ КОЛЛАГЕНА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МОДУЛЯТОРЫ ДОМЕНОВ КОНФОРМАЦИОННОЙ ПОДСТРОЙКИ ПЕРВИЧНЫХ ЦЕНТРОВ СВЯЗЫВАНИЯ АДГЕЗИОННЫХ РЕЦЕПТОРОВ Иванова В.П., Ковалева З.В., Анохина В.В., Сорочинская Е.И., Кривченко А.И.	148
28.	СТЕРЕОСПЕЦИФИЧНОСТЬ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ НЕЙРОПЕПТИДА ЦИКЛО-ПРОЛИЛГЛИЦИНА Колясникова К.Н., Гудашева Т.А., Середенин С.Б.	149
29.	ПОСТ-АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ КАТИОННОГО ПЕПТИДА ВАРНЕРИНА Полюдова Т.В., Лемкина Л.М., Коробов В.П.	150
30.	АКТИВАЦИЯ АУТОЛИТИЧЕСКОГО РАСЩЕПЛЕНИЯ БИОПЛЕНОК <i>S.EPIDERMIDIS 33</i> КАТИОННЫМ ПЕПТИДОМ ВАРНЕРИНОМ Лемкина Л.М., Филатова Л.Б., Полюдова Т.В., Морозов И.А., Коробов В.П.	151
31.	УЧАСТИЕ ГЕТЕРОМЕРНЫХ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НЕЙРОНАЛЬНОГО ТИПА В МЕХАНИЗМАХ ПЛАСТИЧНОСТИ МОЗГА У МЫШЕЙ С МОДЕЛЬЮ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА Крюкова Е.В., Шелухина И.В., Козина Е.А., Угрюмов М.В., Цетлин В.И.	152
32.	ВЛИЯНИЕ ЛИПОФИЛЬНЫХ КАТИОНОВ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ RGD-ПЕПТИДОВ Леко М.В., Похвощева А.В., Дорош М.Ю., Васина Л.В., Петрищев Н.Н., Бурув С.В.	153

33.	ВЛИЯНИЕ АКТИВНОСТИ (15-18)PGR НА ПОСЛЕДСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОГО НЕПРЕДСКАЗУЕМОГО СТРЕССА У БЕЛЫХ КРЫС Манченко Д.М., Захаров А.М., Андреева Л.А., Иноземцева Л.С., Левицкая Н.Г., Мясоедов Н.Ф.	154
34.	ПЕПТИДЫ СЕМЕЙСТВА DSIP: ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ Онопrienко Л.В., Михалева И.И., Прудченко И.А., Чикин Л.Д., Мурашев А.Н., Лобанов А.В., Иванов В.Т.	155
35.	МОДУЛЯЦИЯ ХИТОЗАНОМ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ДЕФЕНЗИНА У МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ Назмиев Б.К., Мурзагулов Г.С., Салтыкова Е.С., Поскряков А.В., Николенко А.Г.	156
36.	НЕГАТИВНЫЕ ВЛИЯНИЯ МАТЕРИНСКОЙ ДЕПРИВАЦИИ НА АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ ПОТОМСТВА БЕЛЫХ КРЫС И ИХ КОРРЕКЦИЯ ГЕПТАПЕПТИДОМ СЕМАКС Себенцова Е.А., Суханова Ю.А., Володина М.А., Яценко К.А., Левицкая Н.Г., Каменский А.А.	157
37.	ОЛИГОПЕПТИДАЗА В ИЗ ПСИХРОФИЛЬНОГО МИКРООРГАНИЗМА <i>SERRATIA PROTEAMACULANS</i> РАСЩЕПЛЯЕТ ГИСТОНЫ ВЫСШИХ ЭУКАРИОТ Смирнова Т.А., Коломийцева Г.Я.	158
38.	СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОТНОШЕНИЯ В РЯДУ АНАЛОГОВ ДИПЕПТИДНОГО МИМЕТИКА МОЗГОВОГО НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА ГСБ-106 Тарасюк А.В., Логвинов И.О., Антипова Т.А., Гудашева Т.А.	159
39.	КОМПЛЕКСНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПЕПТИДНЫХ ФРАКЦИЙ ЯДА ПАУКА <i>TIBELLUS OBLONGUS</i> НА НЕРВНО-МЫШЕЧНОЕ СОЕДИНЕНИЕ ЛИЧИНКИ МУХИ Федорова И.М., Тихонов Д.Б., Малеева Е.Е., Миков А.Н., Козлов С.А.	160
40.	УГЛЕВОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ЛЕКТИНОВ РАСТЕНИЙ ТРИБЫ FAVEAE И GALEGEAE Чубукова О.В., Баймиев Ал.Х., Баймиев Ан.Х.	161

СЕКЦИЯ 5. Химия и биология ферментов

41.	ВЛИЯНИЕ ШАПЕРОНОВ НА ТЕПЛОВУЮ АГРЕГАЦИЮ АПОФОСФОРИЛАЗЫ <i>b</i> И РЕКОНСТРУКЦИЮ ХОЛОФОРМЫ ФОСФОРИЛАЗЫ <i>b</i> Еронина Т.Б., Чеботарева Н.А., Роман С.Г., Курганов Б.И.	163
42.	НОВЫЙ ИНГИБИТОР ТРИПСИНА И ХИМОТРИПСИНА ИЗ КОРНЕВИЩ ЗОЛОТАРНИКА КАНАДСКОГО Иевлева Е.В., Иванов О.А., Гвоздева Е.Л., Домаш В.И., Валуева Т.А.	164
43.	РЕКОМБИНАНТНЫЙ КАТЕПСИН L ИЗ КИШЕЧНИКА ЛИЧИНКИ <i>DERMESTES MACULATUS</i> Калиберда Е.Н., Бобик Т.В., Румш Л.Д.	165

44.	МИТОХОНДРИАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛАКТАТА: МЕХАНИЗМ, РЕГУЛЯЦИЯ, ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА ПРИ ТЕМПЕРАТУРНЫХ АДАПТАЦИЯХ РЫБ Мещерякова О.В., Чурова М.В., Мурзина С.А., Немова Н.Н.	166
45.	ИЗУЧЕНИЕ ИНДУКЦИИ ИНГИБИТОРА ТРИПСИНА В ЛИСТЬЯХ И КОРНЯХ ТОМАТОВ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ГАЛЛОВОЙ НЕМАТОДОЙ И ВОЗДЕЙСТВИИ ЖАСМОНОВОЙ КИСЛОТЫ Ревина Т.А., Иевлева Е.В., Герасимова Н.В., Удалова Ж.В., Зиновьева С.В., Валуева Т.А.	167
46.	РАЗЛИЧИЕ ВКЛАДА ДВУХ α -СПИРАЛИЗОВАННЫХ ДОМЕНОВ В ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АТР-ЗАВИСИМОЙ Lon-ПРОТЕАЗЫ ИЗ <i>E. COLI</i> Андреанова А.Г., Куджаев А.М., Серова О.В., Ротанова Т.В.	168
47.	ЭКСПРЕССИЯ МЕМБРАНОСВЯЗАННОЙ МАТРИКСНОЙ ПРОТЕИНАЗЫ МТ1-ММП И ЕЁ ЭНДОГЕННОГО ИНГИБИТОРА ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМЕ ШЕЙКИ МАТКИ Рыжакова-Тимошенко О.С., Мехтиев А.Р., Каралкин П.А., Соловьева Н.И.	169
48.	АНАЛИЗ И ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКСОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ПРОЛИНСПЕЦИФИЧНЫХ ПЕПТИДАЗ ЛИЧИНОК ЖУКОВ-ВРЕДИТЕЛЕЙ ЗЕРНОВЫХ ЗАПАСОВ <i>TENEbrio MOLITOR</i> И <i>TRIBOLIUM CASTANEUM</i> Смирнова Ю.А., Гоптарь И.А., Евсютина Д.В., Мартынов А.Г., Лобанова А.О., Шарикова В.Ф., Филиппова И.Ю., Эллидина Е.Н.	170
49.	ПОДБОР ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНОГО ФЕРМЕНТНОГО МИКРОДИАГНОСТИКУМА Тихоненко С.А., Шабарчина Л.И., Сабурова Е.А.	171
50.	ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕОЛИЗА ПРОСТЫХ ГЛИПРОЛИНОВ Шевченко К.В., Вьюнова Т.В., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф.	172
51.	ФАРМАКОКИНЕТИКА И МЕТАБОЛИЗМ PRO-GLY-PRO-LEU В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ МОЗГА КРЫС ПРИ ИНТРАНАЗАЛЬНОМ И ВНУТРИВЕННОМ ВВЕДЕНИИ Шевченко К.В., Вьюнова Т.В., Андреева Л.А., Шевченко В.П., Мясоедов Н.Ф.	173

СЕКЦИЯ 6. Инновационные лекарственные средства на основе пептидов и белков. Механизмы действия

52.	ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОЗИМА НА ОСНОВЕ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО УВЕИТА Биневский П.В., Кост О.А., Чеснокова Н.Б., Никольская И.И., Безнос О.В., Павленко Т.А., Клячко Н.Л., Кабанов А.В.	175
-----	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

53.	ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ ВАЖНЫЕ ПЕПТИДЫ КАК МОДУЛЯТОРЫ АКТИВНОСТИ ГАМК-ЭРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА Вьюнова Т.В., Шевченко К.В., Шевченко В.П., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф.	176
54.	РЕКОМБИНАНТНЫЙ ЦИКЛОФИЛИН А ЧЕЛОВЕКА ПРЕПЯТСТВУЕТ АВТОВОЛНОВОМУ ПРОЦЕССУ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ Морозов Ю.А., Калинина А.А., Хромых Л.М., Казанский Д.Б.	177
55.	РОЛЬ $\text{NIF1}\alpha$ В МЕХАНИЗМАХ АНТИГИПОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ДИПЕПТИДНОГО ПРЕПАРАТА НООПЕПТ Салимгареева М.Х., Вахитова Ю.В., Островская Р.У., Гудашева Т.А., Середенин С.Б.	178

ШКОЛА МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ

ТЕЗИСЫ СЕКЦИОННЫХ ДОКЛАДОВ

СЕКЦИЯ 1. Методы разделения, очистки и анализа первичной структуры. Выделение новых природных объектов. Пептидомика. Протеомика

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПЕПТИДОМОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С СОЦИАЛЬНО-ЗНАЧИМЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ Ковальчук С.И., Зиганшин Р.Х., Иванова О.М., Азаркин И.В., Арапиди Г.П., Говорун В.М., Иванов В.Т.	181
ИДЕНТИФИКАЦИЯ СПЕЦИФИЧНЫХ БЕЛКОВ МОРФОГЕННОГО И НЕМОРФОГЕННОГО КАЛЛУСОВ ГРЕЧИХИ ТАТАРСКОЙ Никонорова Н.А., Хаертдинова Л.Р., Ризванов И.Х., Румянцева Н.И.	182
ПРОТЕОМНЫЙ ПРОФИЛЬ ЛИЗОСОМ ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА Шаранова Н.Э., Кирбаева Н.В., Ершова О.М., Перцов С.С.	183

СЕКЦИЯ 2. Методы синтеза, химическая модификация. Белковая инженерия

ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ МОНО-N-ОКСИСУКЦИНИМИД- НЫМИ ЭФИРАМИ ПОЛИКАРБОКСИЛАТНЫХ МЕТАЛЛОХЕЛАТОВ Гарбуз О.С., Свиридов О.В.	185
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

СЕКЦИЯ 3. Физико-химические и расчетные методы исследования. Пространственная структура

НОВЫЕ ДАННЫЕ О ЛИГАНДСВЯЗЫВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ АЛЬФА-1-МИКРОГЛОБУЛИНА ЧЕЛОВЕКА Серченя Т.С., Свиридов О.В.	187
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПОЛИ- γ -БЕНЗИЛ-L-ГЛУТАМАТА С МОЛЕКУЛАМИ ВОДЫ И ДИОКСАНА ПО ДАННЫМ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ И КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИХ РАСЧЕТОВ	188
Макшакова О.Н., Файзуллин Д.А.	

СЕКЦИЯ 4. Биологическая активность. Взаимосвязь «структура – функция»

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭВОЛЮЦИОННО КОНСЕРВАТИВНОГО БЕЛКА ЯДРЫШКА SURF6 В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ	190
Кордокова М.Ю., Моралева А.А., Ползиков М.А., Шишова К.В., Лукьянов К.А., Диаз Ж.-Ж., Зацепина О.В.	
СТРУКТУРНАЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОИЛИНА ИЗ РАСТЕНИЙ <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i>	191
Макаров В.В., Мукосей И.С., Калинина Н.О.	
ПОИСК НОВЫХ ЭФФЕКТИВНЫХ БЛОКАТОРОВ РЕЦЕПТОРА NR ₃ C ₄	192
Брылёв М.И., Раменская Г.В., Лоторев Д.С., Мухачева Е.С., Кузнецова Н.Б., Павлова Л.А., Лизунов А.Ю., Пелевин Н.А., Алифанов В.Л.	
РОЛЬ ОСТАТКА GLN117 ДЛЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ $\alpha 7$ ТИПА С ЭПИБАТИДИНОМ	193
Мерцалов Г.В., Кудрявцев Д.С., Шелухина И.В., Цетлин В.И.	
ПРОТИВОПЕПТИДНЫЕ АНТИТЕЛА К СУРВИВИНУ – ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ БЕЛКА	194
Ахидова Е.В., Калининцева М.В., Волкова Т.Д., Короев Д.О., Якупов И.Ю., Каплун А.П., Завалишина Л.Э., Вольпина О.М.	
ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА БИОСИНТЕЗА ГЛУТАТИОНА D,L-БУТИОНИН-S,R-СУЛЬФОКСИМИНА НА КАЛЛУСЫ ГРЕЧИХИ ТАТАРСКОЙ С РАЗНОЙ СПОСОБНОСТЬЮ К МОРФОГЕНЕЗУ	195
Хаертдинова Л.Р., Румянцева Н.И., Костюкова Ю.А.	

СЕКЦИЯ 5. Химия и биология ферментов

АБЗИМЫ С ОКСИДОРЕДУКТАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ И ИХ ВОЗМОЖНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ	197
Ермаков Е.А., Смирнова Л.П., Бунева В.Н., Иванова С.А., Алифирова В.М., Невинский Г.А.	
ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННАЯ АКТИВНОСТЬ <i>APG</i> -Х ПРОТЕОЛИЗА ИНТЕРФАЗНОГО ХРОМАТИНА ПРИ ИНДУКЦИИ РОСТОВОГО МОРФОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ	198
Карпова Л.М., Иванов Р.С., Вафина Г.Х., Иванова Э.А.	
МУЛЬТИФЕРМЕНТНЫЙ КОМПЛЕКС МИЦЕЛИАЛЬНОГО ГРИБА <i>MUCELIORHYNTHORA SP.</i> ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ХИТОЗАНА	199
Хасанова Л.М., Ильина А.В., Варламов В.П., Сеницын А.П.	

СЕКЦИЯ 6. Инновационные лекарственные средства на основе пептидов и белков. Механизмы действия

ВЛИЯНИЕ СЕМАКСА НА ПАРАМЕТРЫ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ РИТМА СЕРДЦА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ИНФАРКТА МИОКАРДА У КРЫС Морозова М.П., Бердалин А.Б., Сергеева А.А., Емельянова А.Г., Ахметшина М.Р., Леднев Е.М., Лукошкова Е.В.; Гаврилова С.А.	201
УЧАСТИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО БЕЛКА ТЕПЛОВОГО ШОКА HSP70 В ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОМ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИИ У КРЫС С ОСТРЫМ ИНФАРКТОМ МИОКАРДА Шайхутдинова Э.Р., Евгеньев М.Б., Мурашев А.Н., Остров В.Ф.	202
ВЛИЯНИЕ ТОЧКОВЫХ МУТАЦИЙ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ БЕЛКА P53 ПРИ ОСТРЫХ МИЕЛОБЛАСТНЫХ ЛЕЙКОЗАХ Виноградов А.В., Резайкин А.В., Сергеев А.Г.	203
АДАМАНТИЛ-ПЕПТИДЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ ПРОТИВОВИРУСНЫМ И ВИРУЛИЦИДНЫМ ДЕЙСТВИЕМ В ОТНОШЕНИИ ГЕПАТИТА С Гараев Т.М., Шибнев В.А., Финогенова М.П., Дерябин П.Г., Мишин Д.В.	204
СИНТЕТИЧЕСКИЙ ПЕПТИД ОКТАРФИН (TRLVTLFK) ИНГИБИРУЕТ АКТИВНОСТЬ ОСИ «ГИПОТАЛАМУС-ГИПОФИЗ-НАДПОЧЕЧНИКИ» Некрасова Ю.Н., Наволоцкая Е.В.	205

ШКОЛА МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ

ТЕЗИСЫ СТЕНДОВЫХ ДОКЛАДОВ

СЕКЦИЯ 1. Методы разделения, очистки и анализа первичной структуры. Выделение новых природных объектов. Пептидомика. Протеомика

Ш1 ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПЕПТИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ БЕЛКОВ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА Арапиди Г.П., Зиганшин Р.Х., Ковальчук С.И., Азаркин И.В., Алексеев Д.Г., Говорун В.М., Иванов В.Т.	209
Ш2 ПОИСК И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЛИГАНДОВ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ Kv1.1 И Kv1.3 В ЯДЕ ПАУКООБРАЗНЫХ Кузьменков А.И., Кудряшова К.С., Василевский А.А., Королькова Ю.В., Некрасова О.В., Феофанов А.В., Кирпичников М.П., Гришин Е.В.	210
Ш3 ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ИНГИБИТОРОВ АМИЛОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА ИЗ ЛИСТЬЕВ КАРТОФЕЛЯ Цветков В.О., Шпирная И.А., Умаров И.А., Валиахметова К.И., Ибрагимов Р.И.	211
Ш4 ПОИСК МОДУЛЯТОРОВ РЕЦЕПТОРА TRPA1 Шапранова Ю.А., Андреев Я.А., Мошарова И.В., Королькова Ю.В., Гришин Е.В.	212

СЕКЦИЯ 2. Методы синтеза, химическая модификация. Белковая инженерия

- Ш5 ВКЛЮЧЕНИЕ БЕЛКОВ В ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ МИКРОКАПСУЛЫ
МЕТОДАМИ КОПРЕЦИПИТАЦИИ И АДСОРБЦИИ 214
Кочеткова О.Ю., Казакова Л.И., Мошков Д.А., Винокуров М.Г.,
Шабарчина Л.И.
- Ш6 ПОЛУЧЕНИЕ КОНЪЮГАТОВ ПОЛИСИАЛОВОЙ КИСЛОТЫ И ПЭГ С
РЕКОМБИНАНТНЫМ ТИМОЗИНОМ БЕТА-4 215
Макаров Д.А., Есипов Р.С.
- Ш7 ПОЛУЧЕНИЕ ГОМОДИМЕРНЫХ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ,
СОДЕРЖАЩИХ СТРУКТУРНЫЙ МОТИВ - «ЦИСТЕИНОВЫЙ УЗЕЛ» 216
Ярославцева А.К., Курейкин Б.Б., Степаненко В.Н., Есипов Р.С.

**СЕКЦИЯ 3. Физико-химические и расчетные методы исследования.
Пространственная структура**

- Ш8 СОГЛАСОВАННОСТЬ БЛИЖНИХ И СРЕДНИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ
НА ПРИМЕРЕ СКРУЧЕННЫХ β -ШПИЛЕК И 3β -УГОЛКОВ 218
Бошкова Е.А., Бражников Е.В., Ефимов А.В.
- Ш9 СТРУКТУРА ОБМЕННЫХ БЛОКОВ ПРИ ДИМЕРИЗАЦИИ БЕЛКОВ 219
Гордеев А.Б., Ефимов А.В.
- Ш10 ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ
СТРУКТУРОЙ И АМИНОКИСЛОТНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬЮ В
SH3-ПОДОБНЫХ ДОМЕНАХ 220
Каргатов А.М., Бражников Е.В., Ефимов А.В.
- Ш11 ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МОЛЕКУЛ
КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ НА КИСЛОТНЫЙ ГИДРОЛИЗ ПЕПТИДНОЙ
СВЯЗИ 221
Макшакова О.Н., Ермакова Е.А.
- Ш12 СТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АРХЕЙНОГО РИБОСОМНОГО Р1
ВЫСТУПА 222
Митрошин И.В., Габдулхаков А.Г., Никонов С.В., Гарбер М.Б.

СЕКЦИЯ 4. Биологическая активность. Взаимосвязь «структура – функция»

- Ш13 ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОРОТКИХ
ИНСЕКТОТОКСИНОВ ИЗ ЯДА СКОРПИОНА *Mesobuthus eupeus* 224
Арзамасов А.А., Сачкова М.Ю., Ковальчук С.И., Игнатова А.А.,
Феофанов А.В., Василевский А.А., Гришин Е.В.
- Ш14 КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА АНТИАГРЕГАЦИОННОЙ
АКТИВНОСТИ ШАПЕРОНОВ БЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ И
ХИМИЧЕСКИХ ШАПЕРОНОВ 225
Борзова В.А., Маркосян К.А., Кара Д.А., Чеботарева Н.А.,
Муранов К.О.³, Полянский Н.Б., Макеева В.Ф., Курганов Б.И.

Ш15	МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ СЕРИНОВЫХ ПРОТЕАЗ АУТОИНДУКТОРАМИ АНАБИОЗА Валиуллина Ю.А., Ермакова Е.А, Захарченко Н.Л., Зуев Ю.Ф.	226
Ш16	РЕГУЛЯЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОКИНОВ ПЕПТИДНЫМИ ФРАГМЕНТАМИ ГАММА-ИНТЕРФЕРОНА Ермола Е.М., Мартинович В.П., Голубович В.П., Янченко В.В., Языкова Е.В., Янченко А.В.	227
Ш17	СПЕКТРЫ ПЕПТИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ В ИНКУБАЦИОННУЮ СРЕДУ ЭРИТРОЦИТАМИ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ГИПЕРГЛИКЕМИИ <i>IN VIVO</i> И <i>IN VITRO</i> Исаева А.В., Васильева С.Г., Кураева Ю.Г., Кленова Н.А., Лебедева Е.А.	228
Ш18	СТРУКТУРА, ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ И АКТИВНОСТЬ ПЕПТИДНЫХ ИНГИБИТОРОВ КИНАЗЫ ЛЕГКИХ ЦЕПЕЙ МИОЗИНА Казакова О.А., Азьмуко А.А., Сидорова М.В., Молокоедов А.С., Беспалова Ж.Д., Хапчаев А.Ю., Бушуев В.Н., Ширинский В.П.	229
Ш19	БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПЕПТИДНЫЕ КОМПОНЕНТЫ ГЕМОЛИМФЫ ЛИЧИНОК <i>GALLERIA MELLONELLA</i> Костина Д.А., Федоткина О.С., Кленова Н.А., Пурыгин П.П., Буряк А.К., Литвинова Е.Г.	230
Ш20	ЭНДОГЕННЫЙ ЭФФЕКТОР АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА В СОСТАВЕ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА Крюкова О.В., Данилов С.М., Кост О.А.	231
Ш21	ВЛИЯНИЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ПЕПТИДА <i>SLAVATA3</i> НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОГО ДЕЛЕНИЯ И РОСТА КЛЕТОК РАСТЯЖЕНИЕМ Кулуев Б.Р., Нургалеева Э.З., Никоноров Ю.М., Чемерис А.В.	232
Ш22	ИЗУЧЕНИЕ ТУМОРОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ Лузянина А.А., Горячева А.С., Измestьева О.С., Жаворонков Л.П., Дейгин В.И.	233
Ш23	ПЕПТИДНЫЕ ИНГИБИТОРЫ TNF- α - АНАЛОГИ ЦЕНТРОВ СВЯЗЫВАНИЯ <i>POXVIRUS L2 PROTEIN</i> Макаревич Д.А., Ткачук Т.Г., Мартинович В.П., Ермола Е.М., Голубович В.П.	234
Ш24	ИССЛЕДОВАНИЕ РНК-СВЯЗЫВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНОГО БЕЛКА Nt-4/1 И ЕГО ПАТТЕРНА ЭКСПРЕССИИ Макарова С.С., Копертек Л., Шиман Й., Соловьев А.Г., Морозов С.Ю.	235
Ш25	РАЗНООБРАЗИЕ ЦИСТЕИНОВЫХ ПЕПТИДАЗ СЕМЕЙСТВА ПАПАИНА У ЖУКОВ-ЧЕРНОТЕЛОК Мартынов А.Г., Опперт Б., Эллидина Е.Н.	236

Ш26	ВЛИЯНИЕ СТАБИЛИЗИРУЮЩИХ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН В ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЧАСТИ α -ТРОПОМИОЗИНА СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ НА ЕГО СТРУКТУРУ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА	237
	Матюшенко А.М., Артемова Н.В., Случанко Н.Н., Щепкин Д.В., Копылова Г.В., Левицкий Д.И.	
Ш27	СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЦИТОИНСЕКТОТОКСИНОВ ИЗ ЯДА ПАУКА <i>Lachesana tarabaevi</i>	238
	Сачкова М.Ю., Ковальчук С.И., Василевский А.А., Гришин Е.В.	
Ш28	ПРОТЕАСОМЫ ПРИ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ ТКАНИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В УСЛОВИЯХ ИНДУКЦИИ ДОНОРСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ У КРЫС	239
	Степанова А.А., Карпова Я.Д., Божок Г.А., Устиченко В.Д., Люпина Ю.В., Легач Е.И., Бондаренко Т.П., Шарова Н.П.	
Ш29	ВЛИЯНИЕ АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНА И ЕГО СИНТЕТИЧЕСКОГО ФРАГМЕНТА АВП 6-9 НА МАТЕРИНСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ БЕЛЫХ КРЫС	240
	Танаева К.К., Дубынин В.А.	
Ш30	ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ГИДРОЛИЗА FRET-СУБСТРАТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА	241
	Тихомирова В.Е., Биневский П.В., Кост О.А.	
Ш31	РАЗВИТИЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ЭНДОМОРФИНА-2 ВО ВРЕМЕНИ	242
	Чеснокова Е.А., Сарычева Н.Ю., Дубынин В.А., Малышев А.В., Калихевич В.Н., Ардемасова З.А., Каменский А.А.	
Ш32	ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНЫХ, АНТИОКСИДАНТНЫХ И ФЕРМЕНТАТИВНЫХ СВОЙСТВ ЛАКТОФЕРРИНА	243
	Щербинина Т.С., Куликов С.Н., Ильина А.В., Варламов В.П.	

СЕКЦИЯ 5. Химия и биология ферментов

Ш33	ХАРАКТЕРИСТИКА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО КАТЕПСИНА L ИЗ НАСЕКОМОГО-ВРЕДИТЕЛЯ <i>TRIBOLIUM CASTANEUM</i>	245
	Воротникова А., Шарикова В.Ф., Смирнова Ю.А., Филиппова И.Ю., Элпидина Е.Н.	
Ш34	СТРУКТУРНОЕ СХОДСТВО АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ИЗ ПШЕНИЦЫ И НЕЙРОТОКСИНА ИЗ СКОРПИОНА ПОЗВОЛЯЕТ СОЗДАВАТЬ ХИМЕРНЫЕ МОЛЕКУЛЫ	246
	Опарин П.Б., Беркут А.А., Усманова Д.Р., Минеев К.С., Арсеньев А.С., Пеньёр С., Титгат Я., Гришин Е.В., Егоров Ц.А., Василевский А.А.	
Ш35	ДЕЙСТВИЕ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕСС-ФАКТОРОВ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ У РАСТЕНИЙ	247
	Репкина Н.С., Таланова В. В., Топчиева Л.В., Титов А. Ф.	

Ш36	РАСЩЕПЛЕНИЕ ТРУДНОГИДРОЛИЗУЕМЫХ ИММУНОГЕННЫХ ПЕПТИДОВ ПРОЛАМИНОВ ЦИСТЕИНОВЫМИ ПЕПТИДАЗАМИ СЕМЕЙСТВА ПАПАИНА Семашко Т.А., Шарикова В.Ф., Воротникова Е.А., Джулиано Л., Эллидина Е.Н., Филиппова И.Ю.	248
Ш37	СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СУР51 ПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ РОДОВ <i>ASPERGILLUS</i> И <i>CANDIDA</i> , ЯВЛЯЮЩИХСЯ ПРИЧИНОЙ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ Шкель Т.В., Василевская А.В., Гилеп А.А., Усанов С.А.	249

СЕКЦИЯ 6. Инновационные лекарственные средства на основе пептидов и белков. Механизмы действия

Ш38	ГЕМОСТИМУЛИРУЮЩАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПЕПТИДОВ И ПЕПТИДОМИМЕТИКОВ В УСЛОВИЯХ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ Горячева А.С., Лузянина А.А., Измestyева О.С., Жаворонков Л.П., Дейгин В.И.	251
Ш39	ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АЛЬФА-КОНТОКСИНА RG1A Димитриева Т.В., Крюкова Е.В., Рязанцев Д.Ю.	252
Ш40	МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕТИНОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДОВ ПРИ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ Проняева В.Е., Трофимова С.В., Бенберин В.В.	253
Ш41	ПРИГОТОВЛЕНИЕ АФФИННЫХ СОРБЕНТОВ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫХ ГЛИКОПРОТЕИНОВ МИОКАРДА Усачев С.А. Ямалеева А.А.	254

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ СИМПОЗИУМА. ЗАОЧНОЕ УЧАСТИЕ

1	КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА КОМПЛЕКСОВ КАРБОКСИПЕПТИДАЗЫ Т ИЗ <i>ASTYONOMYCES VULGARIS</i> С ДИКАРБОНОВЫМИ КИСЛОТАМИ - АНАЛОГАМИ АРГИНИНА И ФЕНИЛАЛАНИНА Акпаров В.Х., Тимофеев В.И., Кузнецов С.А., Честухина Г.Г., Куранова И.П.	256
2	ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА НОВОЙ ФИТАЗЫ БАЦИЛЛ Ахметова А.И., Шарипова М.Р.	257
3	ВНЕКЛЕТОЧНАЯ МЕТЦИНКИНОВАЯ АДАМАЛИЗИНОПОДОБНАЯ ПРОТЕИНАЗА БАЦИЛ Балабан Н.П., Рудакова Н.Л., Валеева Л.Р., Шарипова М.Р.	258
4	ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЦИТОХРОМА В5 С ЦИТОХРОМАМИ P450 3A4 И 51A1 Бритиков В.В., Янцевич А.В., Усанов С.А.	259

5	ИК-СПЕКТРОСКОПИЯ МУТАНТНЫХ ВАРИАНТОВ ЦИТОХРОМА C, ОБЛАДАЮЩИХ ПОНИЖЕННОЙ ЭЛЕКТРОН-ТРАНСПОРТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ Брянцева Т.В., Черткова Р.В., Браже А.Р., Некрасов А.Н., Юсипович А.И., Долгих Д.А., Кирпичников М.П., Браже Н.А., Максимов Г.В.	260
6	МОЛЕКУЛЯРНОЕ КЛОНИРОВАНИЕ, ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПРЕССИЯ, ВЫДЕЛЕНИЕ, ОЧИСТКА И ИЗУЧЕНИЕ ЛИГАНД-СВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ ЦИТОХРОМОВ P450 МИКОБАКТЕРИЙ Василевская А.В., Дормешкин Д.О., Шкель Т.В., Сергеев Г.В., Гилеп А.А.	261
7	ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ТРОМБОЛИТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ СЕРИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ Данилова Ю.В., Шарипова М.Р.	262
8	ПОЛУЧЕНИЕ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МУТАНТНОЙ ФОРМЫ СУР7В1 ЧЕЛОВЕКА R486C Диченко Я.В., Янцевич А.В., Усанов С.А.	263
9	ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОЙ 11 β -ГИДРОКСИЛАЗЫ ЧЕЛОВЕКА И ХАРАКТЕРИСТИКА ЕЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ Дмитроченко А.Е., Черкесова Т.С., Янцевич А.В., Усанов С.А.	264
10	ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ МИШЕНЕЙ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ ЛЕКАРСТВ Дымова М.А., Чередниченко А.Г., Альховик О.И., Кечин А.А., Курильщикова А.М., Петренко Т.И., Филипенко М.Л.	265
11	РАЗРАБОТКА ЭФФЕКТИВНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ПУРОТОКСИНА-1 Зверева И.О., Степаненко В.Н., Есипов Р.С.	266
12	ВЛИЯНИЕ СЛАБЫХ НИЗКОЧАСТОТНЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМЫЕ ПРОТЕИНАЗЫ СЕМЕЙСТВА КАЛЬПАИНОВ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ И РЫБ Канцерова Н.П., Ушакова Н.В., Крылов В.В., Лысенко Л.А., Немова Н.Н.	267
13	БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ АНАЛОГОВ ПРИРОДНЫХ ИНГИБИТОРОВ ТРОМБИНА ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНИЗМОВ-ГЕМАТОФАГОВ Костромина М.А., Есипов Р.С.	268
14	ПЕПТИД ДЕЛЬТА-СНА В ПРОФИЛАКТИКЕ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО СТАРЕНИЯ ОРГАНИЗМА Кутилин Д.С., Бондаренко Т.И., Михалева И.И.	269
15	РАЗРАБОТКА НОВОГО АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА ПРОТИВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ НА ОСНОВЕ ЭНДОЛИЗИНА БАКТЕРИОФАГА S-394 Легоцкий С.А., Власова К.Ю., Прийма А.Д., Мирошников К.А., Кабанов А.В., Клячко Н.Л.	270

16	МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ Марданова А.М., Замалютдинова Н.М., Гиляева А.Г., Богомольная Л.М.	271
17	АУТОТРАНСПОРТЕР ЛИПАЗЫ <i>PSYCHROBACTER CRYOHALOLENTIS</i> K5 ^T : ХАРАКТЕРИСТИКА И ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ КЛЕТОЧНОГО ДИСПЛЕЯ Петровская Л.Е., Крюкова Е.А., Свирщевская Е.В., Новотоцкая-Власова К.А., Ривкина Е.М., Долгих Д.А.	272
18	ПЕПТИДАЗЫ И ИНГИБИТОРЫ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ, СЕКРЕТИРУЕМЫЕ ЭНТОМОПАТОГЕННЫМ ГРИБОМ <i>TOLYROCLADIUM CYLINDROSPORUM</i> W. GAMS Попова В.В., Белякова Г.А., Дунаевский Я.Е., Белозерский М.А.	273
19	ИДЕНТИФИКАЦИЯ СИГНАЛЬНЫХ ПЕПТИДОВ В КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ <i>SERRATIAGRIMESII</i> Романова Ю.Д., Марданова А.М.	274
20	ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА СВОЙСТВА ХИТОЗАНОВЫХ МИКРОСФЕР С ВКЛЮЧЕННЫМ БЕЛКОМ Седакина Н.Е., Авраменко Г.В.	275
21	ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ПЕПТИДАЗЫ ГРИБОВ, ОБРАЗУЮЩИХ РАЗЛИЧНЫЕ БИОТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ Семенова Т.А., Белякова Г.А., Белозерский М.А., Шамрайчук И.Л., Дунаевский Я.Е.	276
22	ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ БИОДЕСТРУКЦИИ ПОЛИМЕРОВ ДРОЖЖЕВОЙ КЛЕТКИ НА ФРАКЦИОННЫЙ СОСТАВ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОЛИЗАТОВ ДРОЖЖЕВОЙ БИОМАССЫ Серба Е.М., Рачков К.В., Орлова Е.В., Римарева Л.В., Погоржельская Н.С.	277
23	НОВАЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ФИТАЗА ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ: ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА Сулейманова А.Д., Данилова Ю.В., Грайнер Р., Шарипова М.Р.	278
24	ТЕТРАПЕПТИД СТИМУЛИРУЕТ ЭКСПРЕССИЮ N0-СИНТАЗЫ ПРИ СТАРЕНИИ КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ Тарновская С.И., Трофимова С.В.	279
25	ПОЛУЧЕНИЕ АКТИНОПОРИНОВ МУЛЬТИГЕННЫХ НСТ-А И НСТ-S СЕМЕЙСТВ АКТИНИИ <i>HETERACTIS CRISPA</i> Ткачева Е.С., Лейченко Е.В., Монастырная М.М., Зелепуга Е.А., Исаева М.П., Козловская Э.П.	280
26	ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ЭКЗОБЕЛКОВ НА ОСНОВЕ НОВОЙ ОПТИМИЗИРОВАННОЙ ЭКСПРЕССИОННОЙ СИСТЕМЫ <i>BACILLUS SUBTILIS</i> Тойменцева А.А., Шарипова М.Р.	281

27	АНТИДЕПРЕССАНТНЫЕ СВОЙСТВА ПЕПТИДОВ И ИХ РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ КАЛЬМОДУЛИНА Умнов Р.С., Линькова Н.С., Проняева В.Е.	282
28	РОЛЬ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ В ФОРМИРОВАНИИ УСТОЙЧИВОСТИ К ОБЕЗВОЖИВАНИЮ У СПЯЩЕЙ ХИРОНОМИДЫ <i>POLYPEDILUM VANDERPLANKI</i> Шагимарданова Е.И., Шарипова М.Р., Захаров И.С., Кикавада Т., Гусев О.А.	283
29	БЕЛОК CP60 ЯВЛЯЕТСЯ КОМПОНЕНТОМ SU(HW)-ЗАВИСИМОГО ИНСУЛЯТОРНОГО КОМПЛЕКСА <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> Шаповалов И.С., Мельникова Л.С., Костюченко М.В., Головнин А.К.	284
30	ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОЙ БИОЛОГИИ ТОКСИЧНЫХ РИБОНУКЛЕАЗ Ширшиков Ф.В.	285
31	СРАВНИТЕЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДА LYS-GLU И ВХОДЯЩИХ В ЕГО СОСТАВ АМИНОКИСЛОТ НА ИММУНОГЕНЕЗ В СЕЛЕЗЕНКЕ Червякова Н.А., Дудков А.В., Трофимова С.В.	286
32	БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ВЛИЯНИЕ НАНОДИСПЕРСНЫХ СОСТАВОВ СЕРЫ И ЖЕЛЕЗА НА СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКА И КЛЕЙКОВИНЫ ПШЕНИЦЫ Ямалеев А.М., Массалимов И.А., Ямалеева А.А., Мустафин А.Г.	287
33	ГЕМАГГЛЮТИНИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ УГЛЕВОДСВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ ХЛОРОФИЛЛ-БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ХВОИ СЕЯНЦЕВ КЛИМАТИПОВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ Ямалеев О.А.	288
34	АНАЛОГ ФРАГМЕНТА АКТГ 4-10 СЕМАКС ОСЛАБЛЯЕТ ЭФФЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА У КРЫС Яценко К.А., Иноземцева Л.С., Марков Д.Д., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф., Гривенников И.А., Долотов О.В.	289
	АВТОРСКИЙ ИНДЕКС	291

**ТЕЗИСЫ
ПЛЕНАРНЫХ ДОКЛАДОВ**

ПЕПТИДНЫЕ МОДУЛЯТОРЫ ИОНОТРОПНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Гришин Е.В.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова Российской академии наук,
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

E-mail: grev@ibch.ru

Ионотропные рецепторы представляют собой самый многочисленный тип рецепторов, участвующих в передаче сигнала в синапсах. Как правило, они состоят из нескольких субъединиц, которые образуют лиганд- или потенциал-управляемые ионные каналы. В настоящее время известно большое число ионотропных рецепторов, установлена их роль в передаче межклеточных сигналов, в развитии различных заболеваний и патологий. Важнейшей проблемой является направленная регуляция или модуляция функционирования ионотропных рецепторов. Селективным действием на ионотропные рецепторные системы обладает целый ряд веществ природного происхождения и, прежде всего, различные компоненты природных ядов. Важным обстоятельством является тот факт, что многие компоненты яда не оказывают токсического действия, но специфично модулируют функциональную активность отдельных рецепторов или ионных каналов, проявляя тем самым терапевтический эффект. Молекулярное разнообразие ядов в основном обусловлено полипептидными компонентами, которые часто могут взаимодействовать только с определенными рецепторами даже при наличии других гомологичных структур. Почти все известные к настоящему времени ионотропные рецепторы являются мишенью действия пептидных токсинов. Некоторые из них способны специфично модулировать функцию рецепторов, участвующих в процессе генерирования болевых сигналов, проявляя тем самым анальгетическую активность. В данной работе представлены результаты исследований пептидных компонентов природных ядов, селективно действующих на потенциал-зависимые ионные каналы, ванилоидный рецептор TRPV1, рецепторы P2X и ASIC. Новые высокоспецифичные пептиды были идентифицированы, структурно охарактеризованы и получены в эукариотической системе экспрессии. Подробно изучены их молекулярные механизмы действия и анальгетические свойства.

ПАНПРОТЕОМ МИКРОБОВ

Говорун В.М.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Научно-исследовательский институт физико-химической медицины ФМБА
России, 119992, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а*

E-mail: govorun@hotmail.ru

Системная биология бактерий подразумевает интеграцию в единое целое данных о разных сторонах жизнедеятельности и развития организмов с целью понять, предсказать и контролировать наблюдаемые явления. На сегодняшний день количество процессов, поддающихся измерению в бактериальной клетке, велико благодаря развитию технологий в протеомике, геномике, транскриптомике, метаболомике. При этом примечательно, что передовые исследования в каждой из областей зачастую приводят к пониманию сложности системы на очередном измеряемом уровне и невозможностью объяснить поведение системы с этой точки зрения.

Сразу несколько самых популярных для исследований бактерий подверглись системному анализу с интеграцией многочисленных «-омных» данных за последние несколько лет. Системный анализ таких бактерий как *M.pneumoniae*, *H.pylori*, *E.coli* позволяет говорить о многообразии способов и систем регуляции белкового разнообразия в клетке: кроме классических генных сетей можно с уверенностью говорить о значимости нетранслируемых РНК, метилирования генома, взаимодействий метаболитов и аптамеров.

Интересным фактом становится наблюдаемая инвариантность протеомного состава относительно искусственных пертурбаций, вызываемых исследователями; примечательно что аналогичная инвариантность протеома наблюдается и в родственных штаммах, отличающихся на десятки тысяч единичных полиморфизмов. Наличие универсального белкового набора, отвечающего за приспособленческие реакции и фазы развития микробов, аналогично общему набору генов (пангеному) для представителей одного рода. Такой универсальный набор белков и представляет собой панпротеом.

CRYSTAL STRUCTURES OF BACTERIAL AND EUKARYOTIC RIBOSOME COMPLEXES

Yusupov M.

Institute of Genetic, Molecular and Cellular Biology, Department of Integrated Structural Biology, Strasbourg-Illkirch, France

E-mail: marat@igbmc.fr

Ribosomes from bacteria consist of a large and a small subunit, which together compose the 2.5 megadalton (MDa) 70S ribosome. Their eukaryotic counterpart is the 80S ribosome (from 3.5 MDa in lower eukaryotes to 4.5 MDa in higher). Many ribosomal key components are conserved across the three kingdoms of life: bacteria, archaea, and eukarya and constitutes a common core undertaking the fundamental processes of protein biosynthesis.

The mechanism for decoding based on X-ray structures of bacterial 70S ribosome determined at 3.1-3.4 Å resolution and modeling cognate or near-cognate states of the decoding center has been investigated. We show that the 30S subunit undergoes an identical domain closure upon binding of either cognate or near-cognate tRNA. This conformational change of the 30S subunit forms a decoding center that constrains the mRNA in such a way that the first two nucleotides of the A codon are limited to form Watson-Crick base pairs. When a U•G or G•U mismatch, generally considered to form a Wobble base pair, is at the first or second codon-anticodon position, the decoding center forces this pair to adopt the geometry close to that of a canonical C•G pair. This by itself or together with distortions in the codon-anticodon mini-helix and the anticodon loop causes the near-cognate tRNA to dissociate from the ribosome. Our study provides structural insights into a universal principle of decoding on the ribosome.

The complete structure of the full 80S ribosome from *Saccharomyces cerevisiae* at a resolution of 3Å have been determined. The model includes nearly all the rRNA sequences as well as all ribosomal proteins, with the single exception of protein L1. The eukaryotic 80S and bacterial 70S ribosome shares 34 common proteins and eukaryotic ribosome has additional 45 unique proteins and bacterial ribosome has 22 additional unique proteins. The majority of eukaryotic specific elements are located on the periphery of the conserved core thus broadening the surface of interactions between the two subunits through additional eukaryotic bridges. The molecular interactions creating these bridges together with their eukaryotic-specific components can now be described in details. Our crystals capture the ribosome in two different conformations which are believed to reflect intermediate states in course of mRNA and tRNA translocation. The structural comparison of these states, which differ by the degree of rotation of the small subunit and the swiveling of its head with respect to the large subunit, provides a detailed description of conformational rearrangements as well as coordinated movements of intersubunit bridges.

СТРУКТУРНЫЕ МОТИВЫ И ИХ РОЛЬ В СВРАЧИВАНИИ БЕЛКОВ

Ефимов А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка РАН, 142290, г. Пущино, Московская обл., ул. Институтская, 4

E-mail: efimov@protres.ru

Структурные мотивы – это супервторичные структуры, образованные двумя и более соседними по цепи α -спиралями и/или β -тяжами, которые многократно повторяются в молекуле одного белка или часто встречаются в молекулах разных негомологичных белков. Структурные мотивы одного типа характеризуются определенным количеством α -спиралей и/или β -тяжей, их взаимным расположением вдоль цепи и в пространстве, общим ходом полипептидной цепи и хиральностью. И хотя число различных структурных мотивов довольно велико, только некоторые из них имеют уникальные укладки цепей в пространстве и определенную хиральность (Ефимов, 1994). Как правило, они же замкнуты в циклы с помощью различных суперспиралей или расщепленных β -шпилек (Ефимов, 2010). Такие структурные мотивы представляют особый интерес. Тот факт, что одинаковые структурные мотивы часто встречаются в негомологичных белках, указывает на то, что их образование определяется общими физико-химическими принципами, а не гомологией. Многие небольшие белки и домены состоят только из структурных мотивов с уникальными укладками цепей. Это означает, что они достаточно устойчивы и могут свернуться в свои уникальные структуры сами по себе, и, следовательно, могут быть зародышами или готовыми структурными блоками при сворачивании белков. Анализ показывает, что структуры более высокого порядка могут быть получены путем последовательной пристройки α -спиралей и/или β -тяжей к таким зародышам в соответствии с набором правил, выведенных из известных принципов строения белков. Какие промежуточные и конечные структуры при этом могут быть получены, и какие возможны пути роста структур, можно наглядно видеть на соответствующих структурных деревьях белков (Ефимов, 2004). К настоящему времени построено 18 структурных деревьев для различных структурных классов белков. Их компьютерные версии доступны по адресу: <<http://strees.protres.ru/>>.

ЯМР ВЗГЛЯД НА СПИРАЛЬ-СПИРАЛЬНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В ТРАНСМЕБРАННЫХ БЕЛКАХ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ФУНКЦИЮ

Арсеньев А.С., Минеев К.С., Парамонов А.С., Надеждин К.Д.,
Дубинный М.А., Лесовой Д.М., Бочаров Э.В., Шенкарев З.О.,
Гончарук С.А., Бочарова О.В.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая 16/10*

E-mail: aars@nmr.ru

Мембранные белки представляют ~1/3 генома человека и являются мишенью ~2/3 современных лекарственных препаратов. Однако, в отличие от глобулярных белков пространственные структуры мембранных белков (МБ) малоизучены (www.rcsb.org). Несмотря на недавние успехи в исследовании структуры МБ, достигнутые в основном благодаря достижениям методов рентгеноструктурного анализа, недостаток структурных и в особенности термодинамических данных сдерживает развитие биомедицинских исследований и создание лекарственных препаратов для терапии онкологических, нейродегенеративных и др. социально значимых заболеваний. В настоящем сообщении рассматривается ряд примеров использования ЯМР спектроскопии высокого разрешения для исследования структуры, динамики и термодинамики спираль-спиральных взаимодействий ряда (бактериородопсин, рецепторные тирозин киназы, А-бета амилоидогенный пептид, вольтсенсорный домен калиевого канала) мембранных белков. Полученные данные позволяют предложить механизмы функционирования МБ и объяснить влияние патогенных мутаций на их функцию.

ЯМР исследование начинается с оптимизации экспрессии домена МБ в *E.coli* или в бесклеточной системе. Для работы необходимо несколько образцов (3-5 мг) полипептида немеченого стабильными изотопами, N15-меченого и N15/C13-меченого. В ряде сложных случаев используется селективное мечение по отдельным или группе аминокислотных остатков. Следующим важным этапом является подбор и валидация среды, моделирующей биологическую мембрану (мицеллы, бицеллы или липидные нанодиски разного состава). Основные требования к среде: долговременная (более недели) стабильность образца и приемлемые для интерпретации спектры ЯМР. И, наконец, получение структурных данных, расчет пространственной структуры, исследование динамики и термодинамики.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ БЕЛКИ. ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ВЗАИМОСВЯЗЬ

Плетнев В. З.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. Академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

E-mail: vzpletnev@gmail.com

Зеленые флуоресцентные белки (GFP) из морских организмов и их синие, желтые, красные и дальне красные генно-инженерные варианты проявляют экстраординарную способность спонтанно генерировать флуоресценцию. Благодаря этому свойству GFP-подобные флуоресцентные белки (ФБ) нашли широкое применение в клеточной биологии, биотехнологии и биомедицине в качестве биомаркеров для визуализации процессов в живых организмах. Структура ФБ принимает форму закрытого с торцов β -бочонка сформированного из 11-ти антипараллельных бета-сегментов и одной альфа-спирали, в центре которой располагается хромофор. Хромофор образуется из трех аминокислотных остатков X-Tyr-Gly путем внутренней посттрансляционной автокаталитической модификации, которая не требует кофакторов или субстратов. Первый остаток вариабельный, второй и третий – инвариантны. Большое разнообразие спектральных свойств ФБ зависит главным образом от структуры зрелого хромофора и его ближайшего аминокислотного окружения. В большинстве случаев, практическое применение ФБ требует разработки мутантных мономерных вариантов с эмиссией в дальне-красной области спектра ($\lambda_{em} > 610$ нм), обладающих высоким квантовым выходом, высокой скоростью созревания хромофора и фотостабильностью. Биологические ткани более прозрачны для возбуждающего излучения дальне красных белков, чем для белков с меньшей длиной волны эмиссии. Молекулярный механизм формирования хромофора и роль его аминокислотного окружения в проявлении спектральных свойств ФБ далеки от полного понимания. Поведение этих объектов строго взаимосвязано с их структурами. В этой связи, фундаментальный и прикладной интерес для дальнейшего развития этой области представляет детальное изучение пространственных структур ФБ с целью направленного воздействия на их фотофизические свойства.

СТРУКТУРНАЯ БИОЛОГИЯ МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ

Горделий В.И.^{1,2,3}

¹*Институт Структурной Биологии, J.P. Ebel, 41, rue Jules Horowitz, 38027 Гренобль, Франция*

²*Институт Комплексных Систем -5: Структурная Биохимия, Исследовательский Центр Юлих, 52425, Юлих, ФРГ*

³*Московский Физико-Технический Институт (Государственный Университет), Институтский переулок 9, г. Долгопрудный, 141700, Московская область*

E-mail: valentin.gordeliy@ibs.fr

Биомембраны занимают одну из центральных позиций в клеточной и молекулярной биологии. В последние годы стало очевидным, что исследования мембран важны не только для расшифровки природы всех клеточных процессов, но и для того, чтобы понять трансформации, ведущие к патологическим изменениям в клетках, а также для понимания механизмов действия лекарственных веществ.

Мембранные белки представляют примерно одну треть белков, кодируемых геномом, и 70% лекарств имеют своими мишенями мембранные белки. Однако, эти белки составляют только 1% от всех белков, структура которых известна. Несмотря на увеличивающееся число известных структур мембранных белков, определение их структуры по-прежнему является исключительно трудной задачей. Информацию о структуре 1142 мембранных белков можно найти в PDB; при этом, по оценкам они представляют только 343 уникальные структуры (<http://blanco.biomol.uci.edu/mpstruc/listAll/list>). Это весьма незначительная часть из 87000 опубликованных в PDB структур белков. Более того, из 7000 человеческих мембранных белков их структура известна лишь для 20-ти и, как правило, для одного из функциональных состояний. Два узких места в структурных исследованиях мембранных белков – их получение и их кристаллизация.

В докладе будет дан обзор современного состояния структурной биологии мембранных белков. Будут также освещены недавние прорывы в методах и технологиях, относящихся к структурным исследованиям мембранных белков, и даны примеры успешных исследований молекулярных механизмов их функционирования. В центре этого обзора будут мембранные транспортеры ионов и рецепторы.

ПЕПТИДЫ И ЛЕКАРСТВА XXI ВЕКА

Мясоедов Н.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук, 123182, г. Москва, пл. Курчатова, д. 2

E-mail: nfm@img.ras.ru

В настоящее время известно несколько тысяч различных пептидов, обладающих физиологическим действием, однако лишь единичные пептидные последовательности используются в качестве лекарственных препаратов. Успешное лечение социально значимых заболеваний требует создания высокоэффективных препаратов нового типа, без побочных эффектов, не нарушающих естественной работы органов и клеток. Такими свойствами в полной мере обладают лекарственные препараты на основе пептидов, уже вошедшие в клиническую практику.

В докладе рассматриваются основные моменты механизма действия пептидов, приводятся данные на примере пептидов семакс, селанк, простых глипролинов по специфическому связыванию с рецепторными элементами клеток. Обсуждается вклад аллостерического механизма в этом взаимодействии, приводятся данные по изучению транскриптом клетки при воздействии пептидов на рецепторные системы клетки, приводящие к изменению протеомного ответа. Рассматриваются вопросы формирования физиологического ответа клеток под воздействием пептидов на молекулярном уровне и проблемы, связанные с общим пониманием мишеней действия пептидов на клеточном уровне.

Все это позволит понять механизм действия известных препаратов и послужит основой для создания в будущем высокоэффективных инновационных лекарственных препаратов нового поколения на основе пептидов.

Работы выполнены при поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология», Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки - медицине», гранта Президента РФ для поддержки ведущих научных школ № НШ-2628.2012.4.

ПЕПТИДЫ И РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ

Хавинсон В.Х.^{1,3}, Ванюшин Б.Ф.²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 199034, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

²НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119899, г. Москва, Воробьевы горы, кор. А

³Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН 197110, г. Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3

E-mail: ibg@gerontology.ru

Применение коротких пептидов (КП), синтезированных в Санкт-Петербургском институте биорегуляции и геронтологии, приводит к увеличению средней продолжительности жизни и снижению частоты развития опухолей (Anisimov, Khavinson, 2010). В основе физиологического действия КП, вероятно, лежит их геноспецифичное взаимодействие с ДНК в результате сайт-специфического (комплементарного) связывания пептидов с ДНК. Связывание КП сопровождается изменениями экспрессии генов.

КП модулируют действие эндонуклеаз, что, вероятно, происходит благодаря сайт-специфическому связыванию пептид-ДНК, которое защищает ДНК от ферментативного гидролиза. Контролируемое действие эндонуклеаз, в свою очередь, модулируется гистонами (H1, коровые гистоны), тем самым, в ядре гистоны могут влиять на связывание КП с ДНК. Установлено, что КП могут связываться и с гистонами. Это связывание зависит от природы гистона и первичной структуры пептида. Некоторые КП, по-видимому, контролируют гидролиз ДНК эндонуклеазами и на уровне взаимодействия пептида с ферментом. Один и тот же биологически активный КП может по-разному связываться с ДНК в зависимости от ее метилирования. Это может быть частью глобального биологического закона: сайт-специфично (комплементарно) связывающиеся с ДНК (особенно с регуляторными последовательностями) пептиды должны модулировать функции многих оперирующих с ДНК ферментов и транскрипционных факторов. Вероятно, КП селективно связываются с промоторными CNG/CG сайтами, что делает эти сайты недоступными для ДНК-метилтрансфераз и в результате промотор остается неметилированным, что способствует активации генов.

Таким образом, специфические (комплементарные) взаимодействия пептид-ДНК и пептид-гистоны могут эпигенетически контролировать генетические функции клетки. Экспериментально выявленная регуляция КП активности генов указывает на то, что эти сигнальные молекулы могут быть перспективными лекарственными препаратами, обладающими физиологически адекватным воздействием на клетки.

**КАЛЬПАИН-КАЛЬПАСТАТИНОВАЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА
КЛЕТКИ: НАСЛЕДСТВЕННЫЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ**

Немова Н.Н., Лысенко Л.А., Канцерова Н.П., Рендаков Н.Л.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биологии Карельского научного центра РАН,
185910 г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11,*

e-mail: nemova@krc.karelia.ru

Описан ряд заболеваний животных, связанных с дисфункцией кальпаиновой системы, так называемых «кальпаинопатий». Одни патологии имеют наследственную природу и ассоциированы с дефектами в генах кальпаинов, другие – эпигенетические – связаны с нарушением баланса Ca^{2+} в клетках (тканях), который сопровождается избыточной деградацией белков-субстратов кальпаинов. У человека описаны три наследственных заболевания, сопровождающихся изменением уровня экспрессии или сниженной функциональной активностью продуктов генов *CANP3*, *CANP9* и *CANP10*. Большинство кальпаин-ассоциированных патологий развиваются вследствие нарушения кальциевого гомеостаза. Однако, лишь в редких случаях приток Ca^{2+} в цитозоль достаточен для непосредственной активации m-кальпаина, поскольку его потребность в Ca^{2+} (до 1 мМ) на порядки превышает содержание Ca^{2+} в покое. Чаще уровень внутриклеточного Ca^{2+} достигает значений, достаточных для проявления активности μ -кальпаина (максимально активен при 100 мкМ Ca^{2+}), и вполне вероятно, что его низкая и нерегулируемая активность при хроническом процессе может приводить к повреждению ткани. Вероятно, нарушение баланса Ca^{2+} также может вызывать сбой определенных звеньев регуляции активности кальпаинов, например, эффективности ингибирования кальпастатином, фосфорилирования или других пока не установленных механизмов. Сложность установления роли кальпаинов в нормальных и патологических процессах обусловлена отсутствием экспериментальной модели их селективной регуляции. Для подтверждения участия кальпаинов в развитии патологий, при которых нарушен гомеостаз Ca^{2+} , используются синтетические ингибиторы кальпаинов, однако, ни один из них не обладает абсолютной специфичностью. Другой путь «выключения» кальпаинов – использование высокоспецифичного тканевого ингибитора кальпастина или созданных на его основе пептидов. Интерес исследователей в настоящее время сосредоточился на разработке фармакологических средств, избирательно подавляющих активность кальпаинов *in vivo*. Несмотря на то, что эти вещества не изменяют уровень Ca^{2+} в патологически измененной ткани, при их применении достигается выраженный терапевтический эффект.

Работа выполнена с использованием научного оборудования ЦКП ИБ КарНЦ РАН и при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (№ 8050 от 20.07.2012), программы Президента РФ «Ведущие научные школы» (НШ-1642.2012.4), грантов РФФИ №11-04-00167-а, 12-04-01597-а.

УРОКИНАЗНАЯ СИСТЕМА: РОЛЬ МУЛЬТИДОМЕННОЙ СТРУКТУРЫ В РЕГУЛЯЦИИ РОСТА И РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ

Ткачук В.А.^{1,2}, Плеханова О.С.¹, Парфенова Е.В.¹

¹Российский кардиологический научно-производственный комплекс Росмедтехнологий, 121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, 15а;

²Факультет Фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, 119192, Ломоносовский пр-т., д. 31, корп. 5

E-mail: tkachuk@fbm.msu.ru

Активатор плазминогена урокиназного типа (урокиназа, uPA), представляет собой многофункциональный белок, играющий особую регуляторную роль в сосудистой стенке и обладающий способностью запускать протеолитические и сигнальные каскады. Наличие в структуре uPA нескольких доменов позволяет ей регулировать миграцию, адгезию и пролиферацию клеток посредством как зависимых, так и независимых от протеолиза механизмов. На эндотелиальных и гладкомышечных клетках сосудов мы показали, что домены урокиназы связываются с множеством мишеней, запуская сигнальные каскады. Протеолитические механизмы включают в себя локальное образование плазмينا, открепление лидирующего края мигрирующей клетки, а также воздействие на матриксные белки, сигнализацию, перестройку цитоскелета и хемотаксис. С использованием синтезированных нами рекомбинантных форм uPA и антител, нейтрализующих протеолитическую активность uPA, мы показали, что для стимуляции миграции *in vivo* при ремоделировании артерий протеолитические механизмы являются ведущими.

Введение uPA в ишемизированные мышцы сердца или задних конечностей крысы генотерапевтических конструкторов приводит к усилению васкуло- и ангиогенеза. Для проангиогенных эффектов uPA важны как связывание с рецептором, так и протеолитическая активность. uPA увеличивает инвазивный потенциал эндотелиальных клеток, а антитела, блокирующие рецептор uPA (uPAR) или активность урокиназы, уменьшают образование капиллярноподобных структур. Блокада uPAR с помощью антител подавляет неоангиогенез, индуцируемый как фактором роста фибробластов, так и эндотелиальным фактором роста сосудов. Нами получены данные о подавлении миграции эндотелиальных клеток и ангиогенеза *in vitro* протеолитически неактивными рекомбинантными формами урокиназы.

Урокиназу можно рассматривать как перспективную мишень для предотвращения негативного ремоделирования артерий и подавления неоангиогенеза в сетчатке глаза и опухолях с помощью протеолитически неактивных рекомбинантных конструкций урокиназы, а также для стимуляции роста сосудов при ишемических заболеваниях.

**ТЕЗИСЫ
СЕКЦИОННЫХ ДОКЛАДОВ**

СЕКЦИЯ 1

Методы разделения, очистки
и анализа первичной структуры.
Выделение новых природных объектов.
Пептидомика. Протеомика

АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ ПШЕНИЦЫОдинцова Т.И.¹, Егоров Ц.А.²¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, 119991, г. Москва, ул. Губкина, 3²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академ. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10

E-mail: odintsova2005@rambler.ru

Антимикробные пептиды (АМП) - это природные антибиотики, которые синтезируются в клетках всех живых организмов для борьбы с патогенами. Цель настоящей работы заключалась в анализе АМП пшеницы *Triticum kiharae* Dogof. et Migusch., которая обладает повышенной устойчивостью к патогенам. Для выделения АМП был разработан специальный метод, сочетающий в себе различные типы хроматографии, масс-спектрометрию и секвенирование аминокислотных последовательностей по Эдману. В результате из семян пшеницы было выделено 50 новых АМП, причем среди них были обнаружены новые структурные типы, не относящиеся к известным семействам.

Из семян пшеницы выделены 2 пептида WAMP-1a and WAMP-1b, которые относятся к новой подгруппе геваиноподобных АМП, содержащих 10 остатков цистеина. Показано, что пептиды обладают высокой ингибирующей активностью в отношении фитопатогенов. Установлено, что они синтезируются в виде предшественников, которые состоят из сигнального пептида, зрелого пептида и С-концевого продомена. Гены-гомологи пептидов WAMP обнаружены у родственных видов растений родов *Triticum* и *Aegilops*. Они кодируют высоко гомологичные предшественники, которые различаются по положению 34 в полипептидной цепи зрелого пептида. Показано, что эта замена влияет на антифунгальную активность пептидов. Исследована экспрессия генов WAMP в ответ на заражение патогенами и абиотический стресс, а также ее регуляция фитогормонами.

В пшенице впервые обнаружено семейство 4-Цис антимикробных пептидов. Методом 3'- и 5'-RACE была установлена структура кДНК, кодирующих эти пептиды, и показана мультидоменная структура предшественников. Исследовано распространение генов-гомологов 4-цис пептидов у родственных видов злаков, а также их экспрессия в ответ на заражение патогенами и абиотический стресс. В результате проведенных исследований установлена защитная роль обнаруженных пептидов в иммунной системе растений пшеницы.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ (№№12-04-0017 и 11-04-00190) и Программы Президиума РАН «Биоразнообразие».

α -ГАРПИНИНЫ, СЕМЕЙСТВО ЗАЩИТНЫХ ПЕПТИДОВ РАСТЕНИЙ

Василевский А.А., Гришин Е.В., Егоров Ц.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

E-mail: avas@ibch.ru

α -Гарпинины – растительные пептиды длиной ~30-50 остатков, характеризующиеся общим мотивом первичной структуры: $C^1X_3C^2X_nC^3X_3C^4$, где X – любой аминокислотный остаток; четыре инвариантных остатка цистеина образуют две внутримолекулярные дисульфидные связи C^1-C^4 и C^2-C^3 . Укладка этих пептидов представляет собой α -спиральную шпильку, в которой две α -спирали располагаются антипараллельно и соединены двумя S-S-мостиками. В настоящее время порядка двух десятков α -гарпонинов выделено из различных источников, и они представляются вездесущими для цветковых растений. В функциональном отношении α -гарпинины гетерогенны, среди них присутствуют антимикробные пептиды и ингибиторы протеаз, однако всех их принято рассматривать как эффекторные молекулы растений для противодействия биотическому стрессу (при поражении патогенами или в случае атаки насекомых), то есть как защитные пептиды. Гены α -гарпонинов разнообразны. Так, у некоторых растений эти пептиды кодируются в виде протяженных тандемных повторов, а у других – в составе общих генов с запасными белками.

Всесторонняя характеристика α -гарпонинов как нового семейства защитных пептидов растений – результат многолетних исследований, проводившихся под руководством профессора Ц.А. Егорова.

Работа поддержана грантом РФФИ (№ 11-04-00190) и программой МКБ Президиума РАН.

**ПЕПТИДОМ ПЛАЗМЫ И СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА -
РАЗРАБОТКА МЕТОДА АНАЛИЗА**

Зиганшин Р.Х.¹, Ковальчук С.И.¹, Иванова О.М.¹, Азаркин И.В.¹,
Арапиди Г.П.^{1,2}, Говорун В.М.^{1,3}, Иванов В.Т.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки *Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая 16/10*

²*Московский Физико-Технический Институт, 141700, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, 9*

³*Федеральное государственное учреждение Институт физико-химической медицины Федерального Медико-Биологического Агентства России, 119435, г. Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1А*

E-mail: ziganshin@mx.ibch.ru

Пептидом плазмы или сыворотки крови, включая в себя как биологически активные, регуляторные пептиды, так и продукты протеолитической деградации различных белков, представляет собой сложную динамическую систему, состав которой отражает текущий патофизиологический статус организма. Изучение пептидного состава плазмы или сыворотки крови чрезвычайно перспективно не только для выявления диагностических сигнатур различных социально-значимых заболеваний человека, но и для выяснения механизмов развития этих патологий. Качественный и количественный анализ пептидного состава этих дериватов крови является очень нетривиальной задачей в силу высокой концентрации в них белков, низкого содержания пептидов и их ассоциации с мажорные белками плазмы крови. Для задач пептидомных исследований нами разработан простой и производительный метод выделения эндогенных пептидов плазмы и сыворотки крови для их дальнейшего анализа тандемной масс-спектрометрией, сопряжённой с нано-поточной ВЭЖХ. Метод основан на использовании ионообменной хроматографии в объёме и тепловой десорбции пептидов с высоко-представленных белков плазмы/сыворотки крови. При использовании этого подхода для анализа образцов сывороток крови практически здоровых доноров и пациентов с колоректальным раком и раком яичников нами было идентифицировано более 6000 уникальных (неповторяющихся) пептидных структур. Помимо работы по каталогизации пептидов плазмы и сыворотки крови, разработанный метод выделения и идентификации пептидов был нами использован для оценки индивидуальной и групповой (мужчины - женщины) вариабельности пептидного состава образцов плазмы и сыворотки крови.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и проекта РФФИ 11-04-12072-офи-м-2011.

**АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ПЕПТИДЫ ИЗ ЯДА МУРАВЬЯ
*ECTATOMMA QUADRIDENS***

Козлов С.А., [Плужников К.А.], Василевский А.А., Гришин Е.В.

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

E-mail: serg@ibch.ru

В результате исследования яда нескольких видов муравьев семейства *Ectatoma* из Южной Америки на наличие антимикробной активности был обнаружен один наиболее активный яд муравья *Ectatoma quadridens*, который ингибировал 100% роста клеток *Escherichia coli* в концентрации до 30 мг/л и клеток *Arthrobacter globiformis* в концентрациях до 7.5 мг/л. Последующее хроматографическое разделение этого яда с тестированием получаемых фракций на антимикробную активность позволило выделить в индивидуальном виде три основных антимикробных компонента. Эти компоненты с молекулярной массой около 3 кДа, названные как Ponegicin-Q42, Q49 и Q50, были структурно охарактеризованы с помощью секвенирования по методу Эдмана и тандемной масс-спектрометрии. При сравнении строения выделенных пептидов с известными структурами была обнаружена гомология менее 50% с пептидом Ponegicin-W5 из яда муравья *Pachycondyla goeldii*, преимущественно в N-концевой области. Для самого активного по подавлению роста микроорганизмов пептида Ponegicin-Q42 был осуществлен твердофазный химический синтез для проведения исследования биологической активности синтетического аналога.

При тестировании антимикробной активности на пяти различных видах микроорганизмов Ponegicin-Q42 проявил себя высоко активным антимикробным пептидом (минимальная ингибирующая концентрация в пределах 0.2-10 мкМ). Вместе с тем он обладал также значительным уровнем гемолитической активности и при концентрациях 5 мкМ был способен разрушать клеточные мембраны 90% эритроцитов. Мы надеемся, что последующие работы по оптимизации структуры пептида помогут при сохранении высокой антимикробной активности снизить его гемолитическую активность.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и РФФИ.

ПРИРОДНЫЕ МОДУЛЯТОРЫ ПРОТОНАКТИВИРУЕМОГО КАНАЛА ASIC3

Андреев Я.А., Осмаков Д.И., Козлов С.А., Гришин Е.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, дом 16/10

E-mail: ay@land.ru

Протонактивируемые Na⁺ каналы (ASICs) присутствуют во многих типах клеток нервной системы, осуществляя важную функцию в передаче сигнала, связанного с локальным изменением pH при нормальной нейрональной активности. Также ASIC ответственны за чувствительность к боли, возникающей при тканевом ацидозе в мышцах, сердечной ишемии, повреждении роговицы, воспалении и местной инфекции, что позволяет рассматривать их как перспективные терапевтические мишени для создания противовоспалительных и анальгетических препаратов.

Проведено тестирование различных природных образцов на присутствие в них компонентов, способных модулировать активность канала ASIC3. Из экстракта морских анемонов *Heteractis crispa* методом многостадийной жидкостной хроматографии был получен пептид π -AnmTX Hcr 1b-1 с молекулярной массой 4537 Да. В электрофизиологических экспериментах на экспрессированных в ооцитах *Xenopus laevis* каналах ASIC3 пептид подавлял амплитуду быстрой составляющей интегрального тока.

Из яда анемоны *Urticina grebelnyi* был выделен пептид Ugr 9-1, который подавляет как быструю, так и медленную компоненту тока ASIC3 рецептора. В экспериментах в болевых моделях на животных Ugr 9-1 подавлял воспалительную боль и уменьшал болевой ответ, вызванный введением уксусной кислоты.

Выделен и подробно охарактеризован ингибитор активности ASIC3 канала из экстракта чабреца (*Thymus armeniacus*), который получил название севанол. Севанол полностью блокирует быструю компоненту тока с IC₅₀ 353±23 мкМ и частично ингибирует постоянную компоненту тока с IC₅₀ 234±53 мкМ. Севанол показал значительную анальгетическую активность *in vivo* – в дозе 1-10 мг/кг он значительно ослабляет тепловую гиперчувствительность, вызванную воспалением, и уменьшает болевой ответ на введение кислоты. Можно предположить, что севанол является одним из основных компонентов, определяющих известные анальгетические свойства чабреца.

Таким образом, нами получены модуляторы активности протонактивируемого ASIC3 канала, которые могут стать основой для создания лекарственных препаратов нового поколения.

ПЕПТИДНЫЕ НЕЙРОТОКСИНЫ В ЯДАХ ЗМЕЙ

Уткин Ю.Н.¹, Осипов А.В.¹, Старков В.Г.¹, Андреева Т.В.¹, Кашеверов И.Е.¹,
Крюкова Е.В.¹, Жмак М.Н.¹, Вульфийус Е.А.², Цетлин В.И.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и
Ю.А.Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биофизики клетки РАН, Пущино Московской обл.,
Институтская ул., д. 3

E-mail: utkin@mx.ibch.ru

Яды змей представляют собой сложные смеси соединений в основном пептидно-белковой природы с преобладанием белков. Большая часть описанных к настоящему времени пептидов идентифицирована в ядах змей семейства Viperidae и относится в основном к двум семействам: брадикинин-потенцирующие пептиды и натриуретические пептиды. Хотя для последних показано наличие рецепторов в нервной системе, их нельзя отнести к нейротоксинам. Число пептидов, выделенных из змеиных ядов и обладающих нейротоксическим действием, весьма ограничено. К пептидным нейротоксинам можно отнести лишь ваглерины из яда куфии *Tropidolaemus wagleri* и токсины, принадлежащие семейству эндотелинов/сарафотоксинов из яда змей семейства Atractaspis. В работе по поиску токсинов, действующие на никотиновые холинорецепторы (нХР), мы исследовали яды нескольких видов гадюк. В результате был обнаружен ряд низкомолекулярных фракций, блокирующих токи, индуцированные ацетилхолином. В частности из яда бирманской гадюки *Azemiope feae* с использованием нескольких видов жидкостной хроматографии выделен пептид аземиопсин, включающий 21 аминокислотный остаток и не содержащий цистеинов (Utkin et al, 2012). Это первый природный токсин без дисульфидных связей, способный блокировать нХР. Из яда африканской шумящей гадюки *Bitis arietans* также выделен ряд пептидов, блокирующих нХР и отличающихся по аминокислотной последовательности от известных токсинов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 12-04-01523).

АНАЛИЗ ПЕПТИДОМА КЛЕТОК *PHYSCOMITRELLA PATENS*

Фесенко И.А.¹, Середина А.В.¹, Хазигалеева Р.А.¹, Мажейка И.С.¹, Ковальчук С.И.¹, Кострюкова Е.С.², Алексеев Д.Г.², Манолов А. И.², Говорун В.М.^{1,2}, Иванов В.Т.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и
Ю.А.Овчинникова РАН, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая,
16/10

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Научно
исследовательский институт физико-химической медицины ФМБА,
Москва, ул. Малая Пироговская, 1

E-mail: feigor@yandex.ru

Мох *Physcomitrella patens* является современным модельным объектом системной биологии растений. Полная нуклеотидная последовательность ядерного генома была определена усилиями международного консорциума в 2008 г., что существенно расширило возможности протеомных и пептидомных исследований этого объекта. В своей работе мы проанализировали пептидом и транскриптом клеток двух жизненных форм - гаметофоров и протонемы, а также протопластов мха *P. patens*. В клетках гаметофоров и протонемы были идентифицировано около 4000 тысяч уникальных пептидов, являющихся фрагментами нескольких сотен белков-прекурсоров. При этом, как пептиды, так и соответствующие белки-прекурсоры гаметофоров и протонемы существенно различались. Для оценки изменений пептидома растительной клетки при стрессовых воздействиях мы проанализировали пул нативных пептидов, выделенных из протопластов. Было установлено, что в протопластах мха происходят существенные изменения пептидома в сравнении с протонемой. Так, в пептидоме протопластов мы идентифицировали около 20 000 уникальных пептидов, являющихся фрагментами 1500 белков. Для проведения системного анализа пептидогенеза в клетках мха *P. patens* мы провели секвенирование транскриптома гаметофоров, протонемы и протопластов, а также выполнили сравнительный анализ протеомов протонемы и протопластов. Анализ транскриптомов гаметофоров, протонемы и протопластов позволил оценить уровень транскрипции соответствующих белков-прекурсоров. Было установлено, что гены белков-прекурсоров являются высокоэкспрессируемыми. При этом уровень экспрессии почти не связан с количеством детектируемых уникальных пептидов. В докладе будут обсуждаться полученные результаты.

БЕЛКИ ВТОРИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ СТЕНОК: АНАЛИЗ МЕТОДАМИ ПРОТЕОМИКИ В РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЯХ СТЕБЛЯ ЛЬНА

Ибрагимова Н.Н., Мокшина Н.Е., Горшкова Т.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, 420111, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31

E-mail: nibra@yandex.ru

Во вторичных клеточных стенках сосредоточена основная масса органических веществ биосферы. Структура и свойства этого клеточного компартмента определяют его разнообразные функции в растительном организме. Вторичные клеточные стенки составляют основу растительного сырья, используемого в многочисленных направлениях, например, в деревообрабатывающей и бумажной промышленности, а в последнее время и в таких инновационных сферах как производство биотоплива.

Удобной модельной системой для изучения белков вторичных клеточных стенок могут служить растения льна-долгунца с расшифрованным геномом и в которых клетки ксилемы формируют вторичную клеточную стенку ксиланового типа, а флоэмные волокна – вторичную клеточную стенку желатинозного типа. Это позволяет провести сопоставление состава клеточных стенок различных типов, исключая влияние генотипа и условий окружающей среды. В данном исследовании с использованием методов протеомики на примере растений льна впервые проведен сравнительный анализ ионно-связанных белков вторичных клеточных стенок различного типа: желатинозного, характерного для многих растительных волокон, и ксиланового, характерного для клеток ксилемы. Идентификацию белков подтверждали с помощью базы данных Phytozome, которая позволяет провести сравнительный поиск белков на основе недавно появившегося полного сиквенса генома льна. Среди идентифицированных белков присутствовали такие классические белки клеточной стенки как β -галактозидаза, пероксидаза и др. Отмечено, что исследуемые фракции ксиланового типа клеточной стенки характеризуются низким содержанием белков. Для установления принадлежности выявленных белков к клеточной стенке использовались разные методы биоинформатики. Функции большинства белков желатинозного типа клеточных стенок связаны с метаболизмом полисахаридов клеточной стенки. Охарактеризован углеводный состав исследуемых фракций.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 11-04-01602, № 12-04-31418 и гранта по государственной поддержке ведущих научных школ Российской Федерации (НШ-825.2012.4).

СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В МИНИМАЛЬНОЙ КЛЕТКЕ

Фисунов Г. Ю., Горбачёв А. Ю., Алексеев Д. Г., Мазин П. В., Побегуц О.В., Горшкова Т.Н., Израельсон М. А., Ковальчук С.И., Ванюшкина А. А., Карпова И.Ю., Семашко Т. А., Камашев Д.Э., Кострюкова Е.С., Говорун В.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Научно-исследовательский институт физико-химической медицины ФМБА России, 119992, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а

E-mail: augorbachev@gmail.com

В настоящей работе мы исследовали ответ минимальной клетки (*Mycoplasma gallisepticum*) на тепловой шок. Нами был проведен биоинформатический анализ генома *M. gallisepticum*, в результате которого были аннотированы новые возможные транскрипционные регуляторы. Для создания модели теплового стресса мы провели измерение кинетики роста культуры *M. gallisepticum*, а также определили предельно-переносимую температуру, при которой не происходит гибели клеток.

Кроме того, мы провели полнотранскриптомный и протеомный анализы изменения экспрессии генов на уровне мРНК и белков с использованием нескольких комплементарных методик для валидации полученных данных. Используя метод ВЭЖХ-МС, мы также оценили изменения метаболических процессов в клетке в условиях теплового стресса. Кроме того, нам удалось провести полногеномное картирование стартов транскрипции, подтвержденное методом 5'-RACE.

В результате проведенного исследования было показано, что ответ на тепловой стресс принципиально различается в логарифмической и стационарной фазах роста, а также экспрессия множества генов изменяется при переходе от логарифмической фазы к стационарной. В частности, было показано, что увеличение экспрессии генов, контролируемых CIRCE элементом, зависит от фазы роста и не происходит в стационарной фазе. Картирование точек старта инициации транскрипции выявило наличие возможных регуляторных участков в геноме *M. gallisepticum*, которые могут обуславливать различное поведение CIRCE-контролируемых генов. Интересной особенностью протеомного анализа ответа клеток на тепловой стресс оказалось изменение уровня поверхностных антигенов vIhA, в несколько раз превосходящее изменение уровня белков теплового шока. Подобная реакция может играть важную роль в условиях воспалительной реакции при попадании клеток *M. gallisepticum* в организм хозяина.

СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ *HELICOBACTER PYLORI*

Алексеев Д. Г., Алтухов И. А., Побегуц О.В., Ковальчук С.И., Говорун В.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Научно-исследовательский институт физико-химической медицины ФМБА России, 119992, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а

E-mail: exarpeal@gmail.com

Одна из самых популярных для исследований бактерий *Helicobacter pylori* еще ни разу не подвергалась системному анализу с интеграцией разносторонних «-омных» данных. Однако очень многое было сделано в преддверии этого – так, например, опубликованы анализы по протеомному профилю бактерии (Peter R Jungblut et al., 2010) и транскриптомному профилированию (Sharma et al., 2010), регуляторная сеть транскрипционных факторов (Danielli, Amore, & Scarlato, 2010). Хеликобактер является не такой простой моделью для системного анализа, так как многие механизмы, играющие незначительную роль в других бактериях, в полной мере активны в хеликобактере.

В первую очередь это микро и макрогетерогенность. Микрогетерогенность проявляется в большом количестве нуклеотидных полиморфизмов, а макро – в большом количестве входящих и уходящих генов. В среднем геном представителей *H.pylori* содержит около 1500 генов (31 штамм доступен на сегодня), при этом только 1051 ген общий – а все разнообразие генов хеликобактера это 3186 генов. Микрогетерогенность заключается в большом количестве нуклеотидных полиморфизмов до 20 тыс между двумя геномами, что например больше на порядок, чем количество полиморфизмов между геномами туберкулеза. Еще одним механизмом является наличие большого количества некодирующих РНК – так, было показано что антисмысловых RNA найдено больше, чем смысловых: 969 – против 812 (Sharma).

В нашей работе мы отталкивались от наблюдаемой высокой гетерогенности протеомного состава 2-х лабораторных штаммов и 10-ти клинических изолятов. Далее будут получены данные по интерактомике, метаболическим реконструкциям, метиломике, протеомике и транскриптомике, на основе которых будут обозначены механизмы, объясняющие такую регуляцию. Для более детального анализа мы проведем количественные метаболомные, транскриптомные и протеомные сравнения между штаммами в разных стрессовых условиях, а так же сравним профили метилирования после построения модели регуляции.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ БИОТРАНСФОРМАЦИИ ПЕПТИДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАВНОМЕРНО МЕЧЕННЫХ ТРИТИЕМ И ДЕЙТЕРИЕМ СОЕДИНЕНИЙ.

Дадаян А.К.¹, Золотарев Ю.А.¹, Козик В.С.¹, Зиганшин Р.Х.², Бочаров Э.В.², Назимов И.В.², Чижов Ф.О.³, Мясоедов Н.Ф.¹

¹Федеральное государственное учреждение науки Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Москва, пл. Курчатова, д.2

²Федеральное государственное учреждение науки Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

³Федеральное государственное учреждение науки Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва

E-mail: dadayan@mail.ru

Исследовалась реакция высоко температурного твердофазного каталитического изотопного обмена (ВТКИО) происходящая в пептидах под действием спилловер-водорода (СВ). Реакция ВТКИО происходит в твердой смеси, образованной органическим веществом, нанесенным на неорганический носитель, дисперсным металлом платиновой группы и газообразным тритием или дейтерием, при температуре 140-200°C. Реакция происходит в твердой фазе по одноцентровому синхронному механизму на кислотных центрах брэнстедовского типа, образующихся под действием СВ, с практически полным отсутствием рацемизации (Zolotarev et al, 2010). Реакция ВТКИО может быть использована для получения равномерно меченных тритием пептидов, содержащих циклические структуры, неприродные аминокислоты и гликозилированные фрагменты.

Реакцией ВТКИО с дейтерием при 190°C были получены меченные дейтерием пептиды [²H]даларгин, [²H]брадикинин и [²H]HLDF-6, содержащие в среднем 14.6, 5.5 и 3 атома дейтерия, соответственно. Определено распределение изотопной метки в пептидах с использованием Н¹-ЯМР, Н²-ЯМР и масс-спектрометрии. Получены масс спектры меченных дейтерием пептидов и их пептидных фрагментов. Показано, что изотопная метка распределена по всей молекуле, что позволило создать на основе равномерно меченных дейтерием пептидов высокочувствительный количественный MS- и MS-MS метод анализа пептидов и всех фрагментов, образующихся при их биодegradации в тканях. Реакцией ВТКИО с тритием были получены меченные тритием пептиды [³H]даларгин, [³H]брадикинин и [³H]HLDF-6, которые использовались для радиолигандного анализа и исследования путей биотрансформации пептидов *in vivo* и *in vitro*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант 11-03-00350а

СЕКЦИЯ 2

Методы синтеза, химическая модификация.
Белковая инженерия

ЦИКЛОТЕХНОЛОГИЯ – УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ПОДХОД К ПОЛУЧЕНИЮ ПЕРОРАЛЬНО АКТИВНЫХ ПЕПТИДОМИМЕТИКОВ

Дейгин В.И.¹, Ксенофонтова О.Б.¹, Ефремов Е.С.¹, Горячева А.С.²,
Изместьева О.С.², Лузянина А.А.², Саенко А.С.²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, 117997, ул. Миклухо-Маклая 16/10

² Федеральное государственное бюджетное учреждение Медицинский радиологический научный центр Минздрава России РФ, 249036, Обнинск, ул. Королёва, 4

e-mail: vdeigin@gmail.com

Одним из основных ограничений к широкому внедрению пептидных лекарственных препаратов в медицинскую практику является их низкая устойчивость к ферментативному расщеплению при введении в организм. Исследователями используются различные методы и приемы, увеличивающие стабильность молекул при введении в организм, в том числе, получение различных циклических производных.

Для низкомолекулярных пептидных препаратов (до 800 – 1000 D) нами предложен подход, позволяющий создавать стабильные при пероральном приеме соединения, путем «включения» биологически активного фрагмента в структуру дикетопиперазинового производного. Наряду с иммуно- и гемоактивными препаратами получены дикетопиперазиновые производные нейропептидов, обладающие анальгетической активностью при пероральном приеме, а также «химерные» производные, содержащие в своем составе различные фармакофоры.

Проведены структурно-функциональные исследования ряда новых пептидомиметиков – производных дикетопиперазинов, в различных моделях на животных, в том числе на модели клонирования стволовых кроветворных клеток костного мозга в селезёнках облучённых мышей.

В докладе обсуждаются подходы к синтезу и исследованию влияния тонкой химической структуры на биологические свойства полученных веществ.

НАНОБИОГИБРИДНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ОДНОДОМЕННЫХ АНТИТЕЛ И КВАНТОВЫХ ТОЧЕК ДЛЯ ПРОТЕОМИКИ И ДИАГНОСТИКИ

Олейников В.А.^{1,2}, Мочалов К.Е.^{1,2}, Артемьев М.В.^{2,3}, Чистяков А.А.^{1,2}, Суханова А.В.², Набиев И.Р.²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва 117997, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

²Национальный исследовательский ядерный университет Московского инженерно-физического института, 115409, Москва, Каширское ш., 31

³Институт физико-химических проблем, Белорусский государственный университет, Минск

E-mail: voleinik@mail.ru

Использование уникальных свойств полупроводниковых флуоресцентных нанокристаллов (квантовых точек) позволяет реализовать новые подходы к созданию новых нанобиогибридных материалов, использование которых открывает возможности в создании систем индикации, визуализации и различных сенсорных устройств, позволяющих измерять параметры среды в микро- и нанобъемах. Нами разработаны и синтезируются несколько типов нанобиогибридных конъюгатов: 1. единичные нанокристаллы (квантовые точки) с присоединенными к ним распознающими молекулами, в качестве которых использованы полноразмерные антитела, их фрагменты или миниантитела; 2. полимерные микрочастицы, содержащие один или несколько нанокристаллов; 3. полимерные микрочастицы, спектрально кодированные флуоресцентными нанокристаллами, для мультиплексной детекции биологических объектов или для формирования сенсорных микро- или наночастиц. Одной из проблем использования полупроводниковых нанокристаллов в качестве нанозондов для индикации и визуализации является проблема сохранения функциональной активности антител после присоединения их к наночастицам. В работе реализованы два подхода к решению этой проблемы, основанные на ориентированном присоединении фрагментов полноразмерных антител или ориентированном присоединении к поверхности наночастиц фрагментов однодоменных миниантител, производимых в организме верблюдовых. В обоих случаях показана почти 100-процентная активность антиген-распознающих сайтов антител и повышение эффективности селективного связывания нанобиогибридных нанозондов со своими мишенями более чем на порядок. Продемонстрирован потенциал новых нанозондов на примерах мечения клеток и анализа их методами проточной цитометрии, а также при иммуногистохимическом анализе образцов биопсии.

Работа выполнена при поддержке РФФИ 12-04-00779 и 13-04-00168 и ФЦП Минобразования России 1.G34.31.0050 и № 8842.

ТВЁРДОФАЗНЫЙ СИНТЕЗ СУПЕРАГОНИСТОВ ГОРМОНА LH-RH С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРОИЗВОДНОГО СЕРИНА, ЗАЩИЩЁННОГО ПО БОКОВОЙ ЦЕПИ ПОСРЕДСТВОМ ОКСАЗОЛИДИНОВОГО ЦИКЛА

Азев В.Н., Мустаева Л.Г., Горбунова Е.Ю., Чулин А.Н., Родионов И.Л.

Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова, 142290, г. Пуцдино, проспект Науки, 6

E-mail: viatcheslav.azev@fibkh.serpukhov.su

За четыре десятилетия, прошедшие с момента открытия и установления строения гонадотропин-рилизинг гормона гипоталамуса (LH-RH), синтезированы сотни его аналогов и некоторые из них успешно внедрены в медицинскую практику. В первую очередь, это суперагонисты GnRH, нашедшие применение в онкологии для лечения распространённых гормон-зависимых форм рака и некоторых других заболеваний. Важнейшими из этих пептидных фармацевтических препаратов, перешедших в категорию «дженериков», являются трипторелин и лейпрорелин. Суперагонисты гормона LH-RH востребованы и в РФ, о чём говорит тот факт, что три представителя этой группы препаратов, включая трипторелин и лейпрорелин, входят в перечень ЖНВЛП. Ранее с целью разработки технологии получения этих препаратов мы поставили задачу поиска и идентификации побочных продуктов, возникающих при проведении синтеза субстанции этих лекарственных средств, в частности, при проведении синтеза с различными минимальными наборами защитных групп боковых цепей. В ходе этих исследований нами было показано, что наличие незащищённого по боковой цепи остатка серина приводит к появлению продуктов множественных побочных реакций, связанных с O-ацилированием серина в условиях реакций конденсации.

В данной работе представлены результаты исследования по использованию Ser($\Psi^{R,R}_{Pro}$)-производных (где R=H, Me) в твердофазном синтезе трипторелина и лейпрорелина. Показано, что наиболее перспективным производным является 4,4-диметил-1,3-оксазолидинин, причём в этом варианте синтеза используется комбинированная Boc/Fmoc методология. Обнаружен ряд побочных реакций, возникающих при синтезе защищённых оксазолидиновых производных и предложены пути их подавления. Исследованы условия конденсации производных Fmoc-Trp(PG)-Ser($\Psi^{Me,Me}_{Pro}$)-OH. Реакция конденсации псевдопролинового производного была оптимизирована с точки зрения количества этого реагента и выбора метода активации. Было показано, что применение 4,4-диметил-1,3-оксазолидинового (псевдопролинового) производного Ser($\Psi^{Me,Me}_{Pro}$) для защиты боковой цепи серина, действительно приводит к получению целевых продуктов высокой степени чистоты, которая не была ранее нами достигнута при использовании иных вариантов синтеза.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук.

СЕКЦИЯ 3

Физико-химические и расчетные
методы исследования.
Пространственная структура

РОЛЬ ЛИПИДНОГО ОКРУЖЕНИЯ В СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКОМ ПОВЕДЕНИИ ПЕПТИДОВ И БЕЛКОВ В МЕМБРАНАХ: РЕЗУЛЬТАТЫ ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ

Полянский А.А.¹, Кузнецов А.С.², Волинский П.Е.¹, Нольде Д.Е.¹,
Ефремов Р.Г.^{1,2}

¹ *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

² *Московский физико-технический институт (государственный университет), 147000, Институтский пер., 9, г. Долгопрудный, Московская обл.*

E-mail: efremov@nmr.ru

Мембранные и мембрано-активные пептиды и белки (МБ) являются одними из наиболее перспективных мишеней действия лекарств. Понимание фундаментальных физических закономерностей, определяющих структурно-динамические характеристики МБ, необходимо для рационального конструирования нового поколения биологически активных молекул с заданными свойствами. Несмотря на значительный прогресс, достигнутый к настоящему времени в расшифровке пространственной структуры МБ экспериментальными методами, целый ряд проблем остается нерешенным. Среди них – динамическая конформационная подвижность белков в мембранах, роль липидного окружения и других внешних факторов и т.д. Существенную помощь в преодолении указанных трудностей призваны оказать методы компьютерного моделирования. В работе дан обзор полученных авторами результатов, связанных с созданием многоуровневого вычислительного подхода к молекулярному моделированию белок-мембранных систем сложного состава. Вычислительный эксперимент основан на комплексном применении теоретических моделей мембран различного уровня сложности, эффективных алгоритмов исследования конфигурационного фазового пространства молекул и высокопроизводительных вычислений. Корректность подхода подтверждена путем тестирования на ряде пептидов и белков, для которых имеются экспериментальные структурные данные. Обсуждаются перспективы предложенного подхода для уточнения моделей пространственной структуры МБ, определенных экспериментально, а также для изучения конформационных возможностей рассматриваемых белков в мембрано-подобном окружении с различными физико-химическими свойствами.

Работа поддержана РФФИ, Министерством образования и науки РФ (ГК №№ 07.514.11.4127 и 14.514.11.4069), Программами Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и «Основы фундаментальных исследований нанотехнологий и наноматериалов». В работе использовали вычислительные ресурсы Межведомственного суперкомпьютерного центра РАН и Лаборатории i-Scalare МФТИ.

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ИЗУЧЕНИЯ СТРУКТУРНЫХ ПЕРЕСТРОЕК В СОСТАВЕ ОДИНОЧНЫХ ДНК-БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ

Феофанов А.В.^{1,2}, Кудряшова К.С.^{1,2}, Ефременко А.В.^{1,2}, Чертков О.В.¹,
Пестов Н.А.³, Студитский В.М.^{1,3}, Кирпичников М.П.^{1,2}

¹ *Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

² *Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, 119234, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12;*

³ *Медицинская школа Р.В. Джонсона, Университет Ратгерса, США*

E-mail: avfeofanov@yandex.ru

Мы докладываем об успешной разработке методик исследования одиночных нуклеосом и их комплексов с РНК-полимеразой на основе флуоресцентной микроскопии и эффекта FRET (Фёрстеровского резонансного переноса энергии). Исследования могут проводиться, как на иммобилизованных, так и свободно диффундирующих в растворе ДНК-белковых комплексах.

Методика исследования одиночных свободно диффундирующих ДНК-белковых комплексов применима для оценки качества сборки нуклеосом, контроля за влиянием иммобилизации на структуру комплексов, изучения структуры ДНК-белковых комплексов в стационарных состояниях, а также медленных (десятки секунд) структурных перестроек.

Методика исследования одиночных иммобилизованных ДНК-белковых комплексов применима для изучения структурных изменений, происходящих в нуклеосомах в процессе транскрипции с участием РНК-полимеразы и других белков с субсекундным временным разрешением. Методика позволяет обойти проблему рассинхронизации процессов транскрипции, характерную для ансамбля нуклеосом в растворе, и призвана способствовать изучению последовательности формирования структурных интермедиатов и времени жизни комплексов в этих состояниях.

Работа выполнена при поддержке гранта №11.G34.31.0009 Минобрнауки.

МНОГОЧАСТИЧНАЯ КОМПЬЮТЕРНАЯ МОДЕЛЬ БЕЛОК-БЕЛКОВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

Коваленко И.Б., Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б.

*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, 119192,
г. Москва, Ленинские горы, 1*

E-mail: ikovalenko78@gmail.com

Проблема белок-белковых взаимодействий чрезвычайно актуальна: известны пространственные структуры множества самых разных белков, однако, знание пространственной структуры само по себе недостаточно для понимания механизмов функционирования белков, в том числе белок-белковых взаимодействий. Понять механизмы функционирования белков, основываясь на их пространственной структуре, помогают молекулярные компьютерные модели.

Разработан метод компьютерного моделирования диффузии и взаимодействия белков в субклеточных компартментах. Особенностью и новизной нашего метода является возможность с его помощью исследовать взаимодействия нескольких молекул белков одновременно. Это позволяет моделировать процесс образования большого количества комплексов так, как это происходит в растворе или компартменте клетки, а также наблюдать реальную кинетику этого процесса во времени. В этом методе явным образом описываются диффузия, электростатические взаимодействия белков и образование предварительного комплекса. Взаимодействующие молекулы представляются как твердые тела с определенным распределением зарядов на них. Молекулы белков рассматриваются как броуновские частицы, совершающие поступательное и вращательное движение в вязкой среде.

Метод позволил описать процесс образования комплексов фотосинтетических электрон-транспортных белков при различных значениях ионной силы и рН раствора. Теоретически рассчитаны зависимости скорости образования комплексов белков от ионной силы и показано, что зависимость может носить немонотонный характер. Построена модель переноса электрона белком пластоцианином в люмене тилакоида хлоропласта от цитохромного bf комплекса к фотосистеме 1, позволяющая описать кинетику изменения окислительно-восстановительного состояния реагентов в зависимости от концентрации пластоцианина и размеров и формы тилакоида хлоропласта.

Работа поддержана грантами РФФИ 11-04-01019, 11-04-01268, 12-07-33036-мол_а_вед и 12-04-31839-мол_а.

НОВЫЙ МЕТОД ЛОКАЛИЗАЦИИ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ РНК НА ПОВЕРХНОСТИ БЕЛКОВ

Никулин А.Д.¹, Леконцева Н.В.^{1,2}, Мурина В.Н.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка РАН, 142290, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, д. 4

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Удмуртский государственный университет», 426034, г. Ижевск, ул. Университетская, д. 1.

E-mail: [nikulin@vega.protres.ru](mailto:nikulina@vega.protres.ru)

Взаимодействия белков и нуклеиновых кислот играют существенную роль в живых клетках; можно упомянуть такие важные процессы, как регуляция транскрипции и трансляции, сплайсинг, маскирование мРНК и т.п. Для исследования принципов РНК-белкового узнавания используются технически сложные методы, такие как SELEX, химический пробинг и футпринтинг, направленный мутагенез белка. Определение пространственных структур РНК-белковых комплексов с помощью рентгеноструктурного анализа или с использованием ЯМР позволяет наиболее полно описать взаимодействия белков с РНК.

Нами было предложено использовать методику кристаллографического пробинга для локализации сайтов специфического узнавания одноцепочечных РНК на поверхности белка. Она включает в себя кристаллизацию белка с дальнейшим вымачиванием полученных кристаллов в растворах, содержащих индивидуальные рибонуклеотиды. Нахождение условий кристаллизации белка требует, как правило, значительно меньше усилий, чем поиск условий формирования и кристаллизации РНК-белковых комплексов. Остальные стадии заключаются в применении широко используемых методик белковой кристаллографии.

Метод опробован на РНК-связывающих белках Hfq, Rho, TRAP и CspB. В ходе работы идентифицирован новый участок взаимодействия белка Hfq с РНК, наличие которого одновременно и независимо от нас было подтверждено биохимическими методами.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы "Молекулярная и клеточная биология" Президиума РАН и гранта РФФИ №13-04-00783-а.

ФАЗОВАЯ НЕОДНОРОДНОСТЬ РАСТВОРОВ ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ

Рожков С.П., Горюнов А.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра РАН, 185610, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11

E-mail: rozhkov@krc.karelia.ru

Если кооперативные переходы молекул белков и связанные с ними фазовые диаграммы (ФД) белков являются предметом многочисленных исследований, то фазовые свойства и ФД растворов белков долгое время оставались без внимания. Вместе с тем фазовые переходы (ФП) растворов, в которых решающее участие принимает вода, сопряжены с конформационными изменениями белков, поскольку силы, определяющие конформацию белка в растворе, ответственны и за межмолекулярное взаимодействие. В последние годы, в связи с обнаружением в растворах глобулярных белков ФП типа жидкость-жидкость, фазовым явлениям стали уделять больше внимания. Были предложены классические варианты диаграммы фазового состояния, известные для флюидных систем типа газ-жидкость с ФП 1 рода, заканчивающимися критическим ФП при определенной температуре и составе. Экспериментальное и теоретическое построение ФД позволяет установить, сколько фаз и какие именно образуют систему при данных условиях, представить фазовые равновесия и ФП: жидкость – кристалл, жидкость - жидкость, золь – гель, а в области закритических ФП объясняет существование метастабильных мезоскопических кластеров и олигомеров белка (Rozhkov, Goryunov, 2012). К настоящему времени ФД получены для двух десятков белковых растворов, которые в равной степени представлены системами как с нижней, так и с верхней критической температурой растворения (КТР). Анализ потенциала взаимодействия белок-белок предсказывает существование в дисперсии белков только верхней КТР. Термодинамический подход с учетом роли воды (Rozhkov, Goryunov, 2010) позволяет объяснить существование дисперсий с нижней КТР, с верхней КТР, а также одновременное существование нижней и верхней КТР.

ФД имеют фундаментальную значимость для решения проблем кристаллизации белков, анализа явлений ассоциации и агрегации при физиологических и биотехнологических процессах, структурно-динамических изменений, обуславливающих патологию конденсационных заболеваний. В данной работе рассматривается возможность использования теоретических ФД для анализа роли фазовых явлений в реакциях системы вода-полипептид-соль на изменения температуры и (или) солености при моделировании фазового состояния цитоплазмы и межклеточной жидкости.

ОПТИМИЗАЦИЯ МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ БЕЛКА АЛЬБЕБЕТИНА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССА АМИЛОИДООБРАЗОВАНИЯ

Егорова А.Г.¹, Балобанов В.А.¹, Катина Н.С.¹, Васильев В.Д.¹,
Мачулин А.В.¹, Елисеева И.А.¹, Ильина Н.Б.¹, Черткова Р.В.²,
Долгих Д.А.², Бычкова В.Е.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт Белка РАН, 142290, Московская область, г. Пущино,
Институтская ул., 4

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая,
16/10

E-mail: uralm62@rambler.ru

Образование амилоидных фибрилл подчинено общим принципам конформационных переходов в биологических макромолекулах. Считается, что практически любая полипептидная цепь способна образовывать амилоидные фибриллы. Общие принципы образования фибрилл и общие черты строения амилоидов позволяют использовать искусственные белки для исследования общих закономерностей процесса роста амилоидных структур. В нашей работе в качестве такого модельного белка был выбран альбегетин (АВВ), сконструированный в соответствии с теорией вторичной и третичной структуры и соответствующий принципам строения глобулярных белков.

В процессе оптимизации модельной системы, была определена зависимость процесса амилоидообразования от pH раствора, ионной силы, концентрации белка и наличия в нем дисульфидной связи. Процесс амилоидообразования исследовался с использованием спектральных (КД в дальней УФ области, рассеяние света и флуоресценция) и микроскопических (ТЭМ, АСМ и флуоресцентная конфокальная микроскопия) методов.

В результате проведенной работы были выбраны оптимальные условия и способы регистрации процесса амилоидообразования. Были выявлены и охарактеризованы ключевые стадии в процессе образования амилоидных структур АВВ: образование нефибриллярных агрегатов, формирование протофибрилл, созревание фибрилл и объединение их в большие пучки. Полученные результаты позволяют в дальнейшем использовать эту модельную систему для поиска физико-химических основ амилоидообразования.

Работа поддержана программой МКБ РАН и грантом РФФИ (12-04-31616).

«БЕЛКОВАЯ ТОПОГРАФИЯ» — СПОСОБ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ СВЯЗИ СТРУКТУРА–ФУНКЦИЯ В БИОАКТИВНЫХ ПЕПТИДАХ

Чугунов А.О., Коромыслова А.Д., Ефремов Р.Г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Макляя, 16/10

E-mail: batch2k@yandex.ru

Взаимосвязь структуры биомолекул с их функциями - центральный вопрос в физико-химической, структурной и компьютерной биологии. Нахождение этой закономерности дает ответы не только на фундаментальные биологические вопросы, но и лежит в основе рационального поиска и дизайна биологически активных молекул - в т.ч., лекарств. Однако, в отличие от низкомолекулярных веществ, где созданы алгоритмы поиска химического сходства (такие как модели фармакофоров), для биоактивных пептидов - например, токсинов и нейрорегуляторов - аналогичных методов не существует.

Мы предлагаем новый подход к анализу строения небольших (от ≈ 10 до 100–200 аминокислотных остатков) компактных белков, основанный на картировании распределения на их молекулярной поверхности различных физико-химических и геометрических свойств, таких как, например, электростатический потенциал, гидрофобность, рельеф и кривизна поверхности. Этот метод, названный «белковой топографией», использует упрощенное рассмотрение белковых молекул, приводимое к сферическим проекциям. Основные его преимущества: 1) учет молекулярной динамики белков; 2) возможность визуально и численно сравнивать «карты» разных объектов; 3) вычисление «усредненных» карт, несущих детерминанты, обязательные для проявления молекулами определенной биологической активности; 4) построение «дифференциальных» карт, подчеркивающих различия между, например, двумя группами пептидов, обладающих различной биологической активностью.

Мы применили этот подход к нескольким семействам биоактивных пептидов — α -нейротоксинам из яда скорпионов, действующим на активацию потенциал-чувствительных натриевых каналов, α -конотоксинам из яда моллюсков, действующим на никотиновые ацетилхолиновые рецепторы, и мускариновым токсинам, связывающимся с мускариновыми ацетилхолиновыми рецепторами. Алгоритм позволил выявить структурные детерминанты активных молекул, в ряде случаев сформулировать принцип селективного действия и проиллюстрировать конформационный переход из неактивной формы белков в активную.

Работа поддержана грантом РФФИ 11-04-01606-а

МЕТОДЫ СТРУКТУРНОЙ БИОЛОГИИ В РАЦИОНАЛЬНОМ КОНСТРУИРОВАНИИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ЛИГАНДОВ УРИДИНФОСФОРИЛАЗ

Лашков А.А., Сотниченко С.Е., Прокофьев И.И., Балаев В.В., Михайлов А.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова РАН, 119333, Москва, Ленинский проспект, 59

E-mail: alashkov83@gmail.com

В терапии онкологических и инфекционных заболеваний применяют фармакологические препараты, влияющие на процессы метаболизма азотистых оснований и их производных. Перспективными препаратами при лечении инфекционных и онкологических заболеваний являются ингибиторы и субстраты уридинфосфорилазы, так как данный фермент принимает участие в метаболизме противоопухолевых и антибактериальных препаратов - антиметаболитов пиримидинов. Для разработки новых лекарственных препаратов (лигандов уридинфосфорилазы) необходимо детальное исследование пространственной организации макромолекулярных комплексов уридинфосфорилаз бактерий и высших организмов методами рентгеноструктурного анализа при атомном разрешении, а также использование компьютерного моделирования для интерпретации полученных данных и рационального дизайна новых биологически активных соединений.

Методом рентгеноструктурного анализа авторами решены и уточнены структуры при атомном разрешении комплексов уридинфосфорилазы из *S.typhimurium* со многими физиологически (уридин, урацил, тимидин, фосфат-анион, катион калия) и фармакологически (5-фторурацил - 5-FUra, 2,2'-ангидроуридин - ANU) значимыми субстратами. Структуры были депонированы в RCSB ProteinDataBank и отвечают параметрам качества, принятым в мировом научном сообществе. *In silico* методами была определена структура уридинфосфорилазы *Y.pseudotuberculosis* в нелигандированном состоянии, а также в комплексе с 5-FUra. Методом молекулярного докинга была определена структура комплексов уридинфосфорилазы из *V.cholerae* с 5-FUra, уридинфосфорилазы человека с ANU. Проведен сравнительный анализ структур комплексов ANU и 5-FUra с различными бактериальными уридинфосфорилазами, а также с уридинфосфорилазой человека. На базе полученных авторами структурных данных проведено рациональное конструирование новых ингибиторов уридинфосфорилаз методом комбинационного скрининга на основе ANU и 5-FUra. Определены формулы соединений, синтезируемых на основе ANU и 5-FUra, имеющих наибольшие константы связывания с бактериальными уридинфосфорилазами и уридинфосфорилазой человека.

СЕКЦИЯ 4

Биологическая активность.
Взаимосвязь «структура – функция»

УСТРАНЕНИЕ ОСНОВНЫХ СИМПТОМОВ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПРИ СВЯЗЫВАНИИ ПЕПТИДОВ С БЕЛКАМИ И ДНК

Савватеева-Попова Е.В.^{1,2}, Лушников С.Г.³, Щеголев Б.Ф.¹, Никитина Е.А.¹,
Токмачева Е.В.¹, Захаров Г.А.^{1,2}, Журавлев А.В.¹, Паялина Т.Л.^{1,2},
Теремецкая И.Ю.¹, Медведева А.В.^{1,2}, Хавинсон В.Х.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им.И.П. Павлова Российской академии наук, 199034, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

²Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Физико-технический институт им.А.Ф. Иоффе Российской академии наук, 194021, г. Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 26

E-mail: esav@mail.ru

Нейродегенеративные болезни старения (НДЗ), такие как болезни Альцгеймера, Паркинсона (БП) и Хантингтона возникают преимущественно спорадически, менее 1% обусловлены мутацией одного гена. Как при спорадических (изменчивость), так и семейных (наследственность) случаях БП происходят изменения экспрессии одновременно одних и тех же 137 генов, в первую очередь, контролирующих функции актинового цитоскелета. В эксперименте использованы мутационные модели на дрозофиле. Любая модель на животных должна воспроизводить три основных симптома НДЗ: 1) дефекты формирования памяти; 2) локомоторные нарушения; 3) амилоидо-подобные агрегаты. Выделенный нами мутант *agn^{ts3}* локуса *agnostic*, несущего ген для LIMK1, ключевого фермента ремоделирования актина, является моделью БП с деменцией и тельцами Леви. Нами определена последовательность ДНК гена, описаны основные симптомы НДЗ, установлено, что происходит с хромосомами. Показано, что применение пептидов устраняет симптомы НДЗ, что ди-, три- и тетрапептиды связываются с ДНК и придают ей конформацию для генерации микро-РНК, изменяющей экспрессию сотен регулируемых ею генов. При компьютерном моделировании выявлены мишени связывания пептидов с ДНК и белками.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 12-04-01737-а, Программы ПРАН П7 и НИОКР СПбГУ раздела «Биомедицина и здоровье человека» по теме «Разработка модели дрожжи-дрозофила для изучения молекулярных механизмов геномных и спорадических нейродегенеративных заболеваний и скрининга лекарственных препаратов нового поколения».

КОРРЕКТИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ГЕПТАПЕПТИДА СЕМАКС НА ПАРАМЕТРЫ СОЦИАЛЬНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КРЫС, ПОДВЕРГНУТЫХ ПРЕНАТАЛЬНОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ВЫСОКОЙ ДОЗЫ ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ

Дубынин В.А., Малышев А.В., Разумкина Е.В., Рогозинская Э.Я.

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Биологический факультет, 119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12*

E-mail: dva-msu@yandex.ru

Пептид семакс, синтетический аналог АКТГ(4-7), обладает широким спектром активности. Для него характерны длительные ноотропные эффекты; он ослабляет тревожность и депрессивность, положительно влияет на экспрессию нейтрофических факторов (BDNF), оказывает существенное воздействие на развивающийся мозг. В нашей работе для дальнейшего изучения нейропротекторных свойств семакса была использована модель мозговой дисфункции, вызванной пренатальным введением вальпроевой кислоты (ВПК). Инъекции высоких доз ВПК беременным самкам крыс приводят к неврологическим нарушениям, а также изменениям поведения у потомства (рост уровня депрессивности, снижение исследовательской мотивации, нарушение социального взаимодействия).

В нашей работе ВПК в дозе 600 мг/кг вводили внутривентриально самкам белых крыс на 12,5 день беременности. Потомство делили на 2 части: опытной группе в 1-14 дни жизни интраназально вводили семакс (0,05 мг/кг), контрольная группа получала эквивалентный объем растворителя. С детенышами проводили ряд неврологических и поведенческих тестов вплоть до возраста 50 дней. Кроме того, были проведены тесты, направленные на оценку социального взаимодействия (ситуация выбора между матерью и чужой самкой либо между сибсом и чужим детенышем аналогичного возраста).

В результате исследования у крыс, получавших семакс, зарегистрировано увеличение времени контактов с чужой самкой и крысенком из другого выводка – то есть рост стремления к социальной новизне, нормализация социального взаимодействия. Также введение семакса обеспечило частичное улучшение психомоторного развития крысят, снижение уровня их депрессивности, нормализацию ноцицепции.

Результаты экспериментов позволяют рассматривать применение препарата «семакс» в качестве перспективного способа коррекции неврологических расстройств аутистического спектра.

Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-00756.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ С-КОНЦЕВОГО ФРАГМЕНТА АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНА И ЕГО СТРУКТУРНЫХ АНАЛОГОВ

Воскресенская О.Г.¹, Белякова А.С.¹, Дударёнок А.П.¹, Голубович В.П.², Каменский А.А.¹

¹Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, Москва 119992, г. Москва, Ленинские горы, д.1, строение 12

²Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, 220600, г. Минск –23, Академгородок, Жодинская, 5

E-mail: voskresenskaya05@mail.ru

Известно, что аргинин-вазопрессин (АВП) распадается в организме на несколько линейных фрагментов, включающих в себя с 4-го по 9-ый аминокислотные остатки. Эти метаболиты обладают поведенческой активностью, которая не уступает, а зачастую и превосходит активность целой молекулы АВП. В наших экспериментах мы впервые провели исследование биологической активности С-концевого фрагмента АВП – АВП(6-9) и его структурных аналогов – тетрапептидов Ас-L-MPRG, Ас-D-MPRG и Ас-D-SPRG – при их интраназальном введении в дозах 0,01 – 10 мкг/кг за 5, 15, 30 и 60 минут до тестирования. Введение АВП(6-9) вызывало незначительное усиление ОИР (ориентировочно-исследовательская реакция), зависящее от дозы и времени введения; повышение уровня тревожности; ускоряло выработку навыка как с положительным, так и отрицательным подкреплением. Введение Ас-L-MPRG не оказывало влияния на ОИР, уровень тревожности и выработку навыков, однако при введении в дозе 10 мкг/кг оказывало антидепрессантное действие. Введение Ас-D-MPRG вызывало усиление ОИР, сопровождающееся снижением эмоциональной реактивности; снижение уровня тревожности; ускорение выработки навыков и их сохранение, а также оказывало выраженное антидепрессантное действие на поведение животных. Введение Ас-D-SPRG вызывало угнетение ОИР, не влияло на уровень тревожности животных, улучшало обучение животных, оказывало ярко выраженное антидепрессантное действие. Тетрапептиды АВП(6-9) и Ас-D-SPRG были наиболее эффективны при использовании дозы 1 и 10 мкг/кг, наиболее эффективная доза тетрапептида Ас-D-MPRG была 0,01 мкг/кг. Полученные результаты позволяют предположить, что на основе тетрапептидов Ас-D-MPRG и Ас-D-SPRG возможно создание лекарственных средств ноотропного и антидепрессантного действия. В настоящее время тетрапептид Ас-D-MPRG запатентован и проходит клинические испытания.

Работа выполнена в рамках соглашения о научно-техническом сотрудничестве по созданию лекарственного препарата ноотропного действия для внедрения в медицинскую практику Российской Федерации и Республики Беларусь между ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси» и кафедрой физиологии человека и животных Биологического факультета МГУ им. М.В.Ломоносова.

**БЕТА-ИЗГИБЫ ПЕТЛЕОБРАЗНЫХ СТРУКТУР НЕЙРОТРОФИНОВ
КАК ОСНОВА ДЛЯ КОНСТРУИРОВАНИЯ НОВЫХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ**

Гудашева Т. А., Середенин С.Б.

ФГБУ «НИИ фармакологии им.В.В.Закусова» РАМН, 125315, Москва,
ул. Балтийская, 8

E-mail: tata-sosnovka@mail.ru

Нейротрофины (НТ) представляют собой группу регуляторных белков (NGF, BDNF, NT3, NT4), лигандов р75 и Trk рецепторов, участвующих в дифференцировке, росте и выживаемости нейронов. НТ вовлечены в ряд нейробиологических заболеваний, таких как болезни Альцгеймера (БА), Паркинсона, диабетическая нейропатия, инсульты и др., а также в психические заболевания, включая депрессию и шизофрению. Структура НТ образована двумя идентичными полипептидными цепями по 118-120 а.о., каждый протомер имеет 7 бета-тяжей, образующих 3 антипараллельные пары, связанные экспонированными наружу петлями 1, 2, 3, 4. На основе гипотезы, что наиболее экспонированные наружу участки петель, β -изгибы, наиболее плотно взаимодействуют с рецептором, были получены дипептидные аналоги β -изгибов 4-й петли NGF (-Asp⁹³-Glu⁹⁴-Lys⁹⁵-Gln⁹⁶-) и BDNF (-Asp⁹³-Ser⁹⁴-Lys⁹⁵-Lys⁹⁶-). Центральный дипептидный фрагмент β -изгибов, как предположительно наиболее тесно взаимодействующий с рецептором, был сохранен. Предшествующий а.о. был заменен на биоизостер. Последующий а.о. был удален. Для имитации гомодимерной структуры НТ эти аналоги были димеризованы с помощью гексаметилендиамина. В результате были получены миметик 4-й петли NGF гексаметилендиамид бис(сукцинил-Glu-Lys) и 4-й петли BDNF гексаметилендиамид бис(сукцинил-Ser-Lys), получившие шифры ГК-2 и ГСБ-106 соответственно. ГК-2, как и NGF, активировал TrkA, но не TrkB рецептор, а ГСБ-106, как и BDNF, активировал TrkB, но не TrkA. ГСБ-106 активировал сигнальные пути этих рецепторов Akt и Erk, тогда как ГК-2 активировал только Akt. На разных клеточных культурах в условиях глутаматной, 6-оксидофаминовой токсичности и окислительного стресса была показана их нейропротективная активность в интервале концентраций 10⁻⁶-10⁻⁹М. ГК-2 (1 мг/кг) при хроническом внутрибрюшинном введении уменьшал на 60% зону инфаркта на модели фотоиндуцированного инсульта коры головного мозга крыс и на 16% на модели инсульта, вызванного окклюзией среднелобной артерии. При хроническом введении ГК-2 (1 мг/кг) полностью снимал паркинсонический синдром, вызванный унилатеральным введением 6-оксидофамина в стриатум. ГК-2 (0,5 мг/кг) был также активен на стрептозотоциновой модели БА. Было показано, что ГСБ-106 в интервале доз 0,1-1 мг/кг в/б и 10-20 мг/кг п/о обладает антидепрессивной активностью.

Таким образом, впервые созданы системно активные дипептидные миметики нейротрофинов.

СИНТЕТИЧЕСКИЙ ПЕПТИД ОКТАРФИН КАК ИНСТРУМЕНТ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕОПИОИДНОГО ДЕЙСТВИЯ БЕТА-ЭНДОРФИНА

Наволоцкая Е.В., Некрасова Ю.Н.

Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, 142290, Московская обл., г. Пущино, пр. Науки, 6

E-mail: navolotskaya@fibkh.serpukhov.su

Несколько лет назад нами был определен участок молекулы бета-эндорфина, ответственный за связывание с неопиоидным (не чувствительным к опиоидному антагонисту налоксону) рецептором - фрагмент 12-19 (TPLVTLFK), и синтезировали пептид, соответствующий этой последовательности (авторское название - октарфин) (Navolotskaya et al., 2008). Способность октарфина избирательно связываться с неопиоидным рецептором бета-эндорфина позволила успешно использовать его для исследования неопиоидного действия гормона в организме.

Проведенные исследования показали, что октарфин стимулирует функциональную активность иммунокомпетентных клеток мышцы *in vitro* и *in vivo*: при концентрации 1-10 нМ пептид увеличивал адгезию и распластывание перитонеальных макрофагов, а также их способность переваривать бактерии вирулентного штамма *Salmonella typhimurium* 415 *in vitro*; внутрибрюшинное введение октарфина (20 мкг/животное за 7, 3 и 1 сутки до выделения клеток) приводило к возрастанию активности перитонеальных макрофагов, а также Т- и В-лимфоцитов селезенки (Nekrasova et al., 2012). Кроме того, было показано, что октарфин с высоким сродством и специфичностью связывается с Т- и В лимфоцитами крови человека и увеличивает способность этих клеток к пролиферации (Nekrasova et al., 2013).

С помощью меченного тритием октарфина неопиоидный рецептор бета-эндорфина был обнаружен также на синаптических мембранах головного мозга (Nekrasova et al., 2010), мембранах коры надпочечников (Nekrasova et al., 2012) и миокарда (Nekrasova et al., 2012) крысы. При интраназальном введении крысам октарфин оказывал выраженное стресс- и кардиопротекторное действие (Nekrasova et al., 2012).

Таким образом, пептид октарфин является удобным и эффективным инструментом исследования неопиоидного действия бета-эндорфина в различных органах и тканях.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 11-04-00208-а).

ПЕПТИДНЫЙ ФРАГМЕНТ (29-40) ХЕМОКИНА MCP-1 УСКОРЯЕТ РАНОЗАЖИВЛЕНИЕ

Красникова Т.Л.¹, Беспалова Ж.Д.¹, Сидорова М.В.¹, Азьмуко А.А.¹,
Арефьева Т.И.¹, Рулева Н.Ю.¹, Гаврилова С.А.², Ахметшина М.Р.²,
Бердалин А.Б.², Буравков С.В.²

¹Институт экспериментальной кардиологии Федерального государственного бюджетного учреждения Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗ РФ, 121552 Москва, 3-я Черепковская 15а;

²МГУ им. М.В.Ломоносова, факультет фундаментальной медицины, 11719, Москва, Ломоносовский пр.31, корп.5

E-mail: tkrasnikova@gmail.com

Среди хемокинов основная роль в процессе ранозаживления принадлежит CCL2 - моноцитарному хемотаксическому белку-1 (MCP-1). Ранее нами был получен пептидный фрагмент 29–40 структуры MCP-1 H-RRITSSKCPKEA-OH (пептид IX), который вызывал миграцию моноцитов *in vitro* так же эффективно, как и MCP-1. Целью нашего исследования являлось изучение действия пептида IX на миграцию клеток в различных моделях повреждения у экспериментальных животных. В модели восстановления кожного покрова мы исследовали влияние пептида IX на сроки изменения размера раны у линейных мышей. При аппликации на раневую поверхность раствора пептида IX размер раны сокращался быстрее, чем при использовании раствора смеси аминокислот, составляющих пептид IX. На 10-е сутки различия в размерах ран достигали статистической значимости (576 ± 111 и 1142 ± 393 О.Е.).

Роль MCP-1 чрезвычайно значима в атерогенезе и таком его остром проявлении как инфаркт миокарда. Нами были выполнены эксперименты в модели инфаркта миокарда (ишемии в течение 2,5 час с последующей реперфузией) у крыс Wistar. Пептид IX вводили путем внутрисердечной инъекции в зону риска в момент перевязки левой коронарной артерии. Оценка общей световой морфологии и иммуногистохимического окрашивания миокарда на CD68 (поверхностного маркера макрофагов и моноцитов) проводилась через 12, 24, 72 часа и через 28 суток после начала окклюзии. Внутрисердечное введение пептида IX не оказало влияния на размер поражения миокарда и рубца на 3 и 28 сутки. Однако пептид способствовал увеличению количества CD68 позитивных клеток через 12 часов после инфаркта во всех зонах миокарда и меньшему содержанию CD68 позитивных клеток в рубце миокарда на 28 сутки. На этом сроке выявлялась большая сохранность условно интактного миокарда с меньшим количеством немиоцитарных клеток. Таким образом, применение пептида IX способствовало благоприятному протеканию процессов заживления.

CYS-ПЕТЕЛЬНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ: ПОИСК И СОЗДАНИЕ НОВЫХ ЛИГАНДОВ

Кашеверов И.Е., Жмак М.Н., Кудрявцев Д.С., Шулепко М.А.,
Люкманова Е.Н., Цетлин В.И.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

E-mail: shak_ever@yahoo.com

К большому семейству лиганд-управляемых ионных каналов под общим названием «Cys-петельные рецепторы» относят никотиновые ацетилхолиновые рецепторы, а также глициновые, серотониновые и один подтип рецептора гамма-аминомасляной кислоты по общей 5-ти субъединичной организации комплекса и сходной структурной укладке лиганд-связывающего N-концевого домена и трансмембранной части, формирующей канал. Интерес к исследованиям данного семейства рецепторов во многом обусловлен тем, что его представители принимают участие в самых разнообразных процессах жизнедеятельности (от мышечного сокращения до формирования памяти), тогда как нарушения их функционирования сопряжены с мышечными расстройствами, некоторыми психическими и нейродегенеративными заболеваниями. Одной из важнейших задач этих исследований на сегодня является выяснение детальной структуры связывающих центров Cys-петельных рецепторов, что необходимо не только для понимания механизмов их функционирования, но также для создания соединений, способных детектировать фармакологически различные подтипы рецепторов и для разработки новых лекарственных средств. Решение этой задачи достигается либо с помощью структурных гомологов лиганд-связывающего домена рецепторов, таких как ацетилхолин-связывающие белки, либо использованием новых (природных или синтетических) лигандов. Возможности, которые дает второй подход, продемонстрированы на примере соединений самой разнообразной природы. Среди исследованных нами новых лигандов были низкомолекулярные алкалоиды из губок и асцидий, небольшие пептидные альфа-конотоксины из ядовитых морских моллюсков *Conus*, фрагменты гликопротеина вируса бешенства, а также эндогенные «прототоксины» - белки Lynx1 и Slurp1. Методами компьютерного моделирования предложены к синтезу различные аналоги и мутанты ряда пептидных соединений, некоторые из которых показали высокое сродство и специфичность к определенным подтипам Cys-петельных рецепторов и могут найти практическое применение для их детекции.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 12-04-01746.

НИКОТИНОВЫЕ ХОЛИНОРЕЦЕПТОРЫ – ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МИШЕНИ ФОСФОЛИПАЗ А2 ИЗ ЯДОВ ЗМЕЙ

Вульфийус Е.А.¹, Старков В.Г.², Кашеверов И.Е.², Цетлин В.И.², Уткин Ю.Н.²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики клетки РАН, г. Пущино Московской обл., 142290, Институтская ул., д.3

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

e-mail: vulfius@gmail.com

Ранее мы установили, что фосфолипазы А2 (ФЛА2) из яда четырех видов змей семейств Viperidae и Elapidae способны блокировать $\alpha 7$ -подобные никотиновые холинорецепторы (нХР) в нейронах *Lymnaea stagnalis* и конкурировать с [¹²⁵I] α -бунгаротоксином за связывание с мышечными и $\alpha 7$ нХР позвоночных и с ацетилхолин связывающим белком *Lymnaea stagnalis*. Здесь мы представляем данные по аналогичной активности фосфолипаз вуртоксина из яда *Vipera ursini*, битанарина2 из *Bitis arietans* и димерных фосфолипаз HDP1 HDP2 из яда *Vipera nikolskii*, а также результаты более тщательного анализа действия ФЛА2 *Vipera ursini renardi* и СМ2 кобры *Naja kaouthia*.

Все испытанные ФЛА2 подавляли ток, вызванный ацетилхолином в идентифицированных нейронах прудовика. Наиболее сильным антагонистом нХР оказался битанарин2 ($IC_{50} \leq 500$ нМ), что очень близко к активности СМ2 кобры. IC_{50} для вуртоксина - около 10 мкМ. В опытах по связыванию с нХР в мембранах электрического органа *Torpedo californica* и с $\alpha 7$ нХР человека величины IC_{50} для вуртоксина равны 260 нМ и 20 мкМ, соответственно. Димерные ФЛА2 из яда *Vipera nikolskii* в концентрации 10 мкМ блокировали вызванный ацетилхолином ток лишь на 20-30%. Большие концентрации не были испытаны из-за плохой растворимости белка в растворе с рН в слабо щелочной области, используемом для опытов на нейронах. Наши результаты указывают на наличие в молекуле всех фосфолипаз А2 из ядов змей участка, имеющего сродство к двум типам нХР. Поскольку содержание ФЛА2 в яде змей очень высоко, взаимодействие их с нХР может вносить существенный вклад в токсическое действие яда.

Работа была поддержана грантами РФФИ 10-04-00737, 10-04-00708 и 12-04-01523.

РОЛЬ NMDA-РЕЦЕПТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИЙ Т-ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА

Вахитова Ю.В., Зайнуллина Л.Ф., Фаткуллина У.Ш., Кудояров Э.Р.,
Вахитов В.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, 450054, г. Уфа, пр. Октября, 71

E-mail: juvv73@gmail.com

Исследования последних лет указывают на участие некоторых нейромедиаторов (ацетилхолин, дофамин, глутамат) в регуляции иммунного ответа посредством рецепторов, экспрессированных в иммунокомпетентных клетках, обеспечивая тем самым взаимодействие нервной и иммунной систем (Franco et al., 2007; Levite, 2008; Pacheco et al., 2010). В то же время вопрос о значимости и механизмах контроля функций иммунных клеток нейромедиаторами в настоящее время остается открытым. В данной работе представлены результаты исследования роли ионотропных рецепторов глутамата NMDA-подтипа в регуляции активности Т-лимфоцитов человека. Согласно нашим данным, в Т-клетках человека преобладают мРНК, кодирующие NR1, NR2C, NR2D и NR3A субъединицы NMDA-рецепторов, тогда как представленность мРНК для NR2A, NR2B и NR3B субъединиц значительно ниже. Впервые показаны различия в локализации NR1 и NR2A субъединиц NMDA-рецептора в CD4⁺ и CD8⁺ субпопуляциях Т-лимфоцитов человека и зависимость их экспрессии от активации Т-клеточного рецептора и концентрации экстраклеточного глутамата. Выявлено, что NMDA-рецепторы являются компонентами депо-зависимого входа Ca²⁺ в Т-лимфоцитах человека. Установлена сопряженность NMDA-рецепторов Т-лимфоцитов с Ras/Rac-зависимыми сигнальными путями в этом типе клеток. Сравнительный анализ экспрессионного профиля 84 генов в культурах Т-лимфоцитов человека в норме и в условиях блокады NMDA-рецепторов антагонистом (+)-МК801 выявил наличие двух основных кластеров с относительно высоким уровнем значимости, соответствующим категориям “регуляция активации Т-клеток” и “регуляция апоптоза”. В первый функциональный кластер “регуляция активации Т-клеток” вошли гены *CDKN2A*, *IL4*, *IL4R*, *VCAM1*. Кластер “регуляция апоптоза” представлен генами *BAX*, *BIRC2*, *HSPB1*, *GADD45A*, *MYC*, *CDKN2A*, *IL4*. Продемонстрировано участие NMDA-рецепторов в контроле пролиферации и апоптоза Т-лимфоцитов, и обсуждаются возможные механизмы сопряжения NMDA- и Т-клеточного рецепторов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ-Поволжье (№ 11-04-97093) и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (Соглашение № 8046).

ПЕПТИДНЫЙ МИМЕТИК ГМДП И ЕГО МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МИШЕНИ

Ламан А.Г.¹, Савинов Г.В.¹, Шепеляковская А.О.¹, Бозиев Х.М.¹,
Бровко Ф.А.¹, Родионов И.Л.¹, Чулин А.Н.¹, Елисеева И.А.², Гурьянов С.Г.²,
Овчинников Л.П.², Лябин Д.Н.², Свирщевская Е.В.³, Иванов В.Т.³

¹Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, 142290, Московская обл. г. Пущино, проспект Науки, 6

²Федеральное государственное учреждение науки Институт белка РАН,
142290, Московская обл. г. Пущино, ул. Институтская, 4

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

E-mail laman.al@yandex.ru

Нами был идентифицирован линейный пятнадцатичленный пептид (RN), который взаимодействовал со специфичными к ГМДП моноклональными антителами Е6/1.2В12 и воспроизводил адьювантную активность ГМДП. Был синтезирован набор пептидов, состоящий из 22-х укороченных с обоих концов фрагментов исходного RN пептида, и установлено, что существенной для проявления функциональной активности является N-концевая область исходного пептида. С применением стратегии Ala-scan была выяснена роль каждой аминокислоты в составе пятнадцатичленного пептида в обеспечении его биологической активности. Было показано, что биологическая активность пептида сохраняется лишь в случае модификации С-конца. Для поиска молекулярных мишеней RN-пептида из клеток моноцитарно-макрофагальной линии WENI 3 выделяли полисомы, которые подвергали иммунохимическому обогащению. Полученную РНК использовали для синтеза кДНК. По данным секвенирования ДНК, белок, взаимодействующий с RN-пептидом, гомологичен Y-box-связывающим белкам (YB-1). С использованием конкурентного анализа в растворе показано, что ГМДП и RN-пептид конкурируют за связывание с белком YB-1, и соотношение констант диссоциации составляет 1:13. К белку YB-1 с использованием фагового дисплея были получены рекомбинантные антитела в формате scFv и моноклональные антитела. Нокдаун NOD2 или YB-1 подавляет индукцию экспрессии NF-κB. Копреципитация с помощью анти-YB-1 антител выявляла ~ 114 кДа белок, который взаимодействует с анти-NOD2 антителами. Конфокальная микроскопия показывает интрацитоплазматическую колокализацию ГМДП, YB-1 и NOD2.

Работа выполнена при поддержке РФФИ 08-04-00826-а и 11-04-01355-а.

APG-X АКТИВНОСТЬ ПРОТЕОЛИЗА В КОМПЛЕКСАХ КИСЛЫХ И ОСНОВНЫХ БЕЛКОВ СУПРАСТРУКТУР ПОПУЛЯЦИИ КЛЕТОК В РАЗНЫХ ФАЗАХ РОСТА ПЕРИОДИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ *E. COLI*

Тропынина Т.С., Иванов Р.С., Вафина Г.Х., Иванова Э.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Уфимского научного центра РАН, 450054, г. Уфа, пр. Октября, 69

E-mail: evilina@anrb.ru

Известно, что цитоплазма клетки высоко структурирована, поэтому внутриклеточные реакции наиболее полно описывает надмолекулярная химия иммобилизованных ферментов, где учитываются взаимодействия многих макромолекул (Gunter Albrecht-Buehler, 1990). По аналогии с гистонами эукариотических организмов, у прокариот выделена группа гистоноподобных (основных белков), ассоциированных с ДНК (Thanbichler et al., 2005). Кроме того, у прокариот обнаружена протеолитическая деградация регуляторов транскрипции, которая имеет временной характер (Hochstrasser, Varshavsky, 1990). Именно с этих позиций мы решили подойти к анализу *Arg-X* активности протеолиза в комплексах кислых и основных белков внутриклеточных супраструктур популяции *E. coli* в разных фазах роста периодической культуры.

Из внутриклеточных супраструктур *E. coli* (бактериоплазмы, нуклеоидных структур непрочно- и прочно связанных с клеточным остатком и собственно клеточного остатка), полученных при повышении ионной силы раствора, выделены комплексы кислых и основных белков по методу (Иванова, Вафина, Тропынина, 2013). Показано, что период фазы активного роста популяции *E. coli* сопровождается высокой *Arg-X* активностью протеолиза в комплексах кислых белков бактериоплазмы и в комплексах основных белков нуклеоида, прочно связанных с клеточным остатком. При переходе популяции в фазу замедления роста, *Arg-X* активность протеолиза проявляется в комплексах основных белков нуклеоида, непрочно связанных с клеточным остатком и частично в самом клеточном остатке. В стационарной фазе роста *Arg-X* активность наблюдали в комплексах белков нуклеоида, прочно связанных с клеточным остатком, и комплексах белков клеточного остатка. Выявление активности *Arg-X* протеолиза в супраструктурах клеток популяции *E. coli* в разных фазах роста периодической культуры может служить источником информации о том, где ослаблена связь белков с ДНК и где возможно образование пула пептидов и биогенных аминов, несущих определенную сигнальную информацию для организма в целом.

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ОЛИГОПЕПТИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ БЕЛКОВ

Замятнин А.А.^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Российской академии наук Институт биохимии им. А.Н. Баха, Москва, 119071, Ленинский просп. 33, Россия;

² Universidad Técnica Federico Santa María, El Centro Científico Tecnológico de Valparaíso, av. España 1680, Valparaíso, Chile

E-mail: aaz@inbi.ras.ru; alexander.zamyatnin@usm.cl

Как известно, во второй половине прошлого века началось интенсивное выявление первичной структуры белков. С тех пор успешно применяется метод искусственного фрагментирования белковых молекул для последующего определения их полной первичной структуры. Суммарно эти работы привели к получению огромного числа фрагментов самых разнообразных белков. Однако долгое время они использовались лишь для определения аминокислотной последовательности, а их функциональные свойства, как правило, не исследовались.

С течением времени появлялось все больше и больше данных об идентификации фрагментов белков в живых организмах (к настоящему времени описаны уже сотни таких олигопептидных структур). Функциональные свойства многих из них не были известны, в то время как возникал очевидный вопрос об их возможном участии в регуляции биохимических и физиологических процессов. Несмотря на то, что не всегда было ясно, являются ли они продуктами естественной деградации белков или образуются в процессе аналитических процедур выделения, постепенно началось систематическое изучение функций открываемых эндогенных белковых фрагментов. Кроме того, было возобновлено искусственное фрагментирование известных белков, но теперь уже специально для исследования функциональных свойств их фрагментов.

К настоящему времени определены возможные функции уже многих фрагментов самых разнообразных белков, в том числе, пищевых. *In vitro* выявлена их способность участвовать в регуляции нервной, эндокринной и иммунной систем, а также отмечены другие регуляторные свойства. В то же время, очевидно, что белки *in vivo*, расщепляемые протеолитическими ферментами, могут быть источником компонентов динамического пула как эндогенных, так и экзогенных (в пищеварительном тракте) белковых фрагментов. Вследствие этого представляются актуальными детальные исследования возможности реального участия этих фрагментов в регуляторных процессах живых организмов (Замятнин А.А., 2009, 2012).

ИММУННЫЕ ПРОТЕАСОМЫ В РАЗВИТИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ КРЫСЫ

Шарова Н.П., Карпова Я.Д., Люпина Ю.В., Астахова Т.М., Степанова А.А., Ерохов П.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, г. Москва, ул. Вавилова, 26

E-mail: npsharova@bk.ru

Исследована динамика экспрессии иммунных субъединиц LMP7 и LMP2 протеасом в эмбриональном и раннем постнатальном развитии селезенки и печени крысы в сравнении с динамикой химотрипсинподобной и каспазаподобной активностей протеасом и особенностями экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) класса I. Обнаружена общая для обоих органов тенденция к увеличению экспрессии субъединиц LMP7 и LMP2 на П21 (21-й постнатальный день) по сравнению с эмбриональным периодом при постоянном общем уровне протеасом. При этом в селезенке наблюдалось постепенное увеличение количества обеих иммунных субъединиц на П1, П18 и П21, в печени же период постепенного увеличения уровня иммунных субъединиц на Э16 (16-й эмбриональный день) и Э18 сменялся периодом его падения на П5. Этот уровень достоверно не изменялся до П18 и повышался на П21. Выявленные изменения сопровождались увеличением химотрипсинподобной активности и падением каспазаподобной активности протеасом в селезенке к П21 по сравнению с эмбриональным периодом, что свидетельствует о повышении способности протеасом к образованию антигенных эпитопов для молекул ГКГ класса I. В печени обе активности увеличивались к П21 по сравнению с эмбриональным периодом. Подобную динамику каспазаподобной активности можно объяснить не только сменой протеолитических конститутивных и иммунных субъединиц, но и дополнительными регуляторными механизмами. Кроме того, обнаружено, что увеличение экспрессии иммунных субъединиц протеасом в раннем развитии селезенки связано с процессом последовательного формирования белой пульпы В- и Т-лимфоцитами, обогащенными иммунными субъединицами. В печени же увеличение уровня иммунных субъединиц к П21 сопровождалось увеличением их экспрессии в гепатоцитах, в то время как падение их уровня к П5 связано с утратой печенью функции первичного лимфоидного органа иммунной системы к этому периоду и исчезновением из нее В-лимфоцитов, обогащенных иммунными протеасомами. В селезенке и печени выявлялись молекулы ГКГ класса I в периоды увеличения уровня иммунных субъединиц протеасом. В совокупности полученные результаты свидетельствуют о том, что Т-клеточный иммунный ответ с участием селезенки по отношению к клеткам печени у крыс возможен начиная с периода П19 – П21.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 12-04-00072-а.

**ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ПРОТЕАСОМ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ
НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ БЕСТИМУСНЫХ МЫШЕЙ BALB/C (NUDE)**

Люпина Ю. В., Орлова А. Ш., Астахова Т. М., Шарова Н. П.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, 26

E-mail: yulial@bk.ru

Иммунодефицитные мыши с нарушениями Т-клеточного иммунитета не способны выполнять когнитивные задачи. Формирование нервной и иммунной систем в онтогенезе и функционирование во взрослом организме находятся под контролем универсальной протеолитической убиквитин-протеасомной системы. Цель работы - изучение экспрессии тотального пула протеасом, уровня каталитических конститутивных субъединиц $\beta 1$ и $\beta 5$ и иммунных субъединиц LMP2($\beta 1i$) и LMP 7($\beta 5i$) протеасом, регуляторов PA700 и PA28, а также химотрипсинподобной активности (ХПА) и каспазаподобной активности (КПА) в различных отделах центральной нервной системы бестимусных мышей BALB/c (nude) в сравнении с мышами линии BALB/c. Обнаружено, что экспрессия тотального пула протеасом во всех изученных структурах: фронтальной коре, стриатуме, гиппокампе, мозжечке и стволе головного мозга бестимусных мышей BALB/c (nude) меньше, чем у мышей линии BALB/c. При исследовании активностей протеасом в коре, стриатуме, гиппокампе отмечено снижение ХПА по сравнению с животными контрольной группы, а в стриатуме, гиппокампе бестимусных мышей была снижена также КПА. Показано, что в коре, стриатуме и гиппокампе бестимусных мышей увеличивается уровень субъединиц $\beta 1$ и $\beta 5$ протеасом. Содержание субъединицы LMP2 снижалось в коре и стволе мозга, а экспрессия субъединицы LMP7 была выше в стриатуме и гиппокампе бестимусных мышей. В стволе мозга бестимусных мышей снижено содержание субъединицы LMP7, а уровень экспрессии субъединицы $\beta 5$ увеличен по сравнению с таковым контрольных мышей. Выявлено увеличение уровня регулятора протеасом PA700 в стриатуме и гиппокампе бестимусных мышей. В мозжечке и стволе мозга бестимусных мышей наблюдалось снижение экспрессии регуляторов протеасом PA700 и PA28. Во всех изученных отделах головного мозга бестимусных мышей была снижена экспрессия gFAP (глиального фибриллярного кислого белка). Уровень экспрессии MBP (миелин-связывающего белка) в коре, мозжечке и стволе мозга увеличивался, но снижался в стриатуме и гиппокампе бестимусных мышей. Содержание NeuN (нейронального ядерного белка) во всех изученных структурах не отличалось от такого же показателя контрольной группы животных. Таким образом, нарушения в когнитивных функциях у бестимусных мышей BALB/c (nude) могут быть связаны с особенностями функционирования пула протеасом и изменением нейронального микроокружения во фронтальной коре, стриатуме и гиппокампе этих животных. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-04-00072.

ИНГИБИТОР РС КАМЧАТСКОГО КРАБА, СВОЙСТВА, СТРУКТУРА, ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С КУЛЬТУРОЙ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Руденская Г.Н.

Химический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119992, Москва, ГСП-2, Ленинские горы, д.1, строение 3

E-mail: laboratoriahps@hotmail.com

Новый эндогенный ингибитор РС выделен из гепатопанкреаса камчатского краба *Paralithodes camchaticus* с помощью аффинной хроматографии и гельфильтрации. Степень чистоты препарата ингибитора подтверждена наличием одной N-концевой последовательности белка: Ala-Gln-Pro-Gln-Cys-. Ингибитор подавляет активность сериновых протеиназ (трипсина, химотрипсина, субтилизина, тромбина, сериновой коллагенолитической протеиназы камчатского краба) и папаина, но не действует на плазмин и глутамилэндопептидазу. Ингибитор существенно замедляет распластывание клеток HeLa в системе *in vitro*, эффект дозозависимый. Обнаружено, что в процессе роста клетки секретируют протеиназы активные по субстратам трипсино- и химотрипсино-подобных протеиназ. Значения стехиометрии ингибирования оказались порядка 10. Для ингибирования химотрипсиноподобной протеиназы HeLa необходимо меньшее количество ингибитора, чем для остальных исследованных протеиназ, в том числе и для эндогенных протеиназ (коллагеназа и трипсин краба). Установлена нуклеотидная и аминокислотная последовательности проингибитора РС камчатского краба. Анализ кДНК гена и транслированной аминокислотной последовательности показал, что ингибитор содержит 402 аминокислотных остатка, молекулярная масса 44,5 кДа, изоэлектрическая точка 9,14. Сравнение аминокислотных последовательностей ингибитора РС краба с ингибиторами, относящимися к семейству серпинов из наиболее близких представителей семейства членистоногих, позволяет отнести эндогенный ингибитор камчатского краба к семейству серпинов. Аминокислотная последовательность зрелого ингибитора содержит всего два остатка цистеина. На основании выравнивания аминокислотных последовательностей, был установлен реактивный центр ингибитора. Сайт узнавания белков мишеней имеет аргинин в P1 положении (Arg361) и серин в P1' положении (Ser362). Активный центр оказывается высококонсервативным, что объясняет специфичность ингибиторов к сериновым протеиназам.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 12-04-00709-а

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО КАТИОННОГО ПЕПТИДА ВАРНЕРИНА

Коробов В.П., Полюдова Т.В., Лемкина Л.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН, 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13

E-mail: korobov@iegm.ru

Быстрое формирование резистентности бактерий к новым антибиотикам, обусловленное высоким мутационным потенциалом бактериальных популяций, определяет необходимость постоянного поиска новых эффективных препаратов для подавления патогенной микрофлоры. В этой связи, привлекают внимание низкомолекулярные катионные пептиды – активные участники антагонистических реакций в бактериальных системах (Yeung et al, 2011). Наличие положительного заряда на молекулах этих соединений способствует их быстрой аккумуляции на клеточных мембранах с образованием нерегулируемых пор и череде событий, способствующих гибели атакованных клеток. В частности, это может быть связано с нарушением сопряженного с образованием АТФ транспорта электронов по дыхательной цепи с избыточной аккумуляцией их на железосерных центрах дыхательной цепи и, как следствие, повышением в цитоплазме концентрации свободных ионов Fe^{2+} . Действительно, как показали наши исследования, введение в среду инкубации бактерий *S. epidermidis* хелатора ионов Fe^{2+} 2,2'-дипиридила или ингибитора реакции Фентона тиомочевини значительно снижает антибактериальное действие катионного низкомолекулярного пептида варнерина. В присутствии этих соединений минимальная ингибирующая концентрация пептида увеличивается на два порядка. Полученные данные свидетельствуют о том, что индукция образования свободных радикалов, по-видимому, является важным элементом антибактериального действия варнерина. Это проявляется в обнаруженном нами повышении внутриклеточного уровня гидроксильных радикалов под действием пептида в прямых экспериментах по значительному возрастанию уровня флюоресценции специфического индикатора этих токсических соединений гидроксифенилфлуоресцеина.

Таким образом, результаты наших исследований свидетельствуют о том, что существенным элементом антибактериальных эффектов варнерина является активация процессов образования свободных гидроксильных радикалов, проявляющих во всех биологических системах универсальное летальное действие.

Работа поддержана грантами РФФИ №№ 11-04-96025-р_урал_а и 12-04-10431-а, Программы «МКБ» Президиума РАН №12-П-4-1002 и УрО РАН № 12-М-14-2035.

О ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ МЕЖДУ МОТОРНЫМ И РЕГУЛЯТОРНЫМ ДОМЕНАМИ ГОЛОВКИ МИОЗИНА, ПРОИСХОДЯЩИХ В ПРОЦЕССЕ АТФазной РЕАКЦИИ

Левицкий Д.И.^{1,2}, Марков Д.И.¹, Николаева О.П.², Падалко Н.С.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва 119071, Ленинский просп., д.33

²НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова

E-mail: Levitsky@inbi.ras.ru

Используя метод дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) в сочетании с измерениями температурных зависимостей триптофановой флуоресценции белка, мы исследовали доменную структуру изолированных головок миозина скелетных мышц (субфрагмент 1 миозина, S1) как в отсутствие нуклеотидов, так и в стабильных тройных комплексах S1-ADP-V_i и S1-ADP-BeF_x, имитирующих ключевые интермедиаты АТФазной реакции S1 – S1^{**}-ADP-P_i и S1^{*}-АТФ, соответственно. Показано, что образование таких комплексов приводит к значительному повышению термостабильности обоих главных доменов S1 – как моторного, так и регуляторного. В частности, тепловой переход, соответствующий необратимой тепловой денатурации регуляторного домена S1, смещается на кривой ДСК более чем на 10°C в сторону более высокой температуры, от 42–44°C в отсутствие нуклеотидов до 52–55°C в тройных комплексах S1-ADP-V_i и S1-ADP-BeF_x. Помимо этого показано, что в этих комплексах полностью исчезают ярко проявляющиеся в отсутствие нуклеотидов значительные различия в характере тепловой агрегации при низкой ионной силе между двумя изоформами S1, содержащими разные «существенные» легкие цепи (ELC1 и ELC2), ассоциированные с регуляторным доменом S1. Высказано предположение, что образование тройных комплексов S1-ADP-V_i и S1-ADP-BeF_x способствует внутримолекулярному взаимодействию N-концевого сегмента легкой цепи ELC1, отсутствующего у ELC2, с моторным доменом S1, предотвращая таким образом межмолекулярные взаимодействия этого сегмента ELC1 с другими молекулами S1, что проявляется в предотвращении необычной агрегации изоформы S1(ELC1) при низкой ионной силе. В совокупности, все полученные данные свидетельствуют в пользу гипотезы о том, что в процессе АТФазной реакции происходит достаточно прочное взаимодействие регуляторного домена (скорее всего – его «существенной» легкой цепи) с моторным доменом S1, которое резко изменяет характер тепловой денатурации регуляторного домена.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант 12-04-00411) и Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

ГЛИПРОЛИНЫ: СТРУКТУРА, БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ

Шрам С.И., Мясоедов Н.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук, 123182, г. Москва, пл. Академика Курчатова, д.2

E-mail: shram@img.ras.ru

Глипролины (ГП) представляют собой короткие пептиды, состоящие из остатков глицина (Gly), пролина (Pro) и гидроксипролина (Hyp). В норме уровень этих пептидов незначителен и обусловлен, главным образом, диетой, однако при некоторых патологиях их содержание в организме многократно возрастает. На клеточном уровне ГП влияют на экспрессию некоторых генов, секрецию белков, а также на пролиферацию и миграцию клеток. При фармакологическом введении эти пептиды проявляют иммуномодулирующее, противовоспалительное, противодиабетическое и антикоагулянтное действие. Природа этой полифункциональности пока не выяснена, возможно, она обусловлена существованием нескольких, или даже многих молекулярных мишеней.

Проведенные нами исследования фармакологического действия ГП на животных и клеточных моделях нейродегенерации, показали: 1) ГП обладают выраженным нейропротективным действием на моделях фокальной ишемии головного мозга и диабетической ретинопатии; 2) при токсическом действии Глу на культивируемые нейроны мозжечка крысы ГП увеличивают выживаемость нейронов, задерживают развитие отсроченной кальциевой дисрегуляции и предотвращают падение мембранного митохондриального потенциала ($\Delta\Psi$); 3) ГП предотвращают вызванную окислительным стрессом гибель нейронально-дифференцированных клеток РС12, и этот эффект во многом обусловлен присутствием в молекуле С-концевой последовательности -Gly-Pro-OH. Также было исследовано влияние ГП на активность ряда экстраклеточных протеаз. Показано, что ГП могут эффективно подавлять активность ангиотензин-превращающего фермента – ключевого фактора ренин-ангиотензиновой системы. Кинетический анализ показал, что для большинства исследованных ГП характерен смешанный тип ингибирования. При этом наибольшей ингибиторной активностью обладали пептиды, содержащие С-концевую последовательность -Gly-Pro-OH – Hyp-Gly-Pro и Leu-Pro-Gly-Pro ($K_i \sim 10\text{ мкМ}$). Полученные данные позволяют приступить к созданию пространственной модели фармакофора, определяющего взаимодействие глипролинов со специфическими мишенями, вовлеченными в механизмы нейропротективного и, возможно, других выявленных эффектов ГП.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (проект № 11-04-02066 и 12-04-90444).

**ЦИСТЕИН-БОГАТЫЙ БЕЛОК КАРЛАВИРУСА: РОЛЬ ВО
ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С РАСТЕНИЕМ-ХОЗЯИНОМ**

Соловьев А.Г.¹, Луховицкая Н.И.², Соловьева А.Д.³, Савенков Е.И.²

¹ *НИИ Физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского Московского Государственного Университета им. М.В.Ломоносова, 119992, Москва, Ленинские Горы, д. 1, стр. 40*

² *Department of Plant Biology and Forest Genetics, Swedish University of Agricultural Sciences, PO Box 7080, SE-75007 Uppsala, Sweden*

³ *Биологический факультет Московского Государственного Университета им.М.В.Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские Горы, МГУ, д. 1, стр. 12*

e-mail: solovyev@genebee.msu.su

Род *Carlavirus* включает ряд вирусов растений с гибкими нитевидными вирионами и геномом, представленным одноцепочечной РНК положительной полярности. Помимо белков, необходимых для репликации вирусного генома, межклеточного транспорта вирусной инфекции и формирования вирионов, геномы карлавирuсов кодируют небольшие цистеин-богатые белки (ЦББ), функции которых неизвестны. Было обнаружено, что ЦББ, кодируемый геномом Б-вируса хризантемы (БВХ) и называемый р12, при экспрессии в составе генома гетерологичного вируса вызывает гиперчувствительный ответ, которому предшествует индукция экспрессии ряда генов растения-хозяина, связанных с патогенезом, стрессом и системной приобретенной устойчивостью. В клетках растений р12 локализуется преимущественно в ядре. Опыты *in vitro* выявили, что р12 способен связывать и РНК, и ДНК, но в присутствии ионов цинка преимущественно связывает ДНК. Мутационный анализ показал, что основной мотив в составе р12 необходим для транспорта белка в ядро, тогда как предсказанный мотив цинкового пальца необходим для цинк-зависимого связывания ДНК и индукции гиперчувствительного ответа. В условиях природной инфекции БВХ в растениях хризантемы или при высоком уровне гетерологичной экспрессии в растениях табака наряду с гиперчувствительным ответом развивается гиперплазия, дезорганизованное избыточное деление клеток, приводящее к деформированию листовой пластинки. Было показано, что р12 активирует экспрессию клеточного белка *urr-L*, являющегося транскрипционным фактором, который, как было обнаружено, регулируют ряд генов, контролирующих клеточный цикл. Для активации экспрессии гена *urr-L* необходим транспорт р12 в ядро и его взаимодействие с определенным регуляторным элементом в промоторе гена *urr-L*, происходящее при участии мотива цинкового пальца. Таким образом, впервые показано, что геном РНК-содержащего вируса, жизненный цикл которого проходит в цитоплазме, может кодировать фактор транскрипции, который транспортируется в ядро и регулирует экспрессию клеточных генов. Работа была частично поддержана грантом РФФИ 12-04-00139-а.

**НОВЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ МОДЕЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ АНАЛИЗА
БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЕПТИДОВ РАСТЕНИЙ**

Скрипников А.Ю., Гончарова Е.А., Никитин В.Б.

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

E-mail: a.skripnikov@gmail.com

Впервые для тестирования биологической активности пептидов растений были использованы лабораторные и природные споры двух видов мхов в качестве высокосинхронной и гомогенной клеточной модельной системы. С этой целью в лабораторных условиях были получены споры *Physcomitrella patens*, а споры второго вида мха - *Atrichum undulatum* - заготавливали путем сбора и депонирования зрелых коробочек, сформировавшихся на гаметофорах в природных условиях на Звенигородской биостанции Московского университета. Пептиды, структура которых была установлена нами ранее в ходе пептидного анализа *P. patens* (Скрипников и др., 2011), были синтезированы на твердой фазе для дальнейшего использования при разработке тест-систем и исследования их биологической активности. При анализе воздействия пептидов на споры обоих видов мхов был применен биологический критерий прорастания спор, основанный на разрыве оболочки споры и появлении выроста первичной хлоромы. Активность пептида оценивали по доле проросших спор от их общего числа (не менее 800 спор при анализе каждой концентрации). Разработаны и апробированы алгоритмы анализа видеоизображений спор для программного учета доли проросших спор. В результате тестирования 14-ти пептидов было установлено, что: 1) пептиды мхов оказывают воздействие на прорастание спор в диапазоне концентраций в среде инкубирования 1 мкМ — 10 фМ; 2) выявлены пептиды как значительно стимулирующие, так и подавляющие прорастание спор, а также пептиды, не оказывающие действия на прорастание спор в исследованном диапазоне концентраций; 3) минимальная концентрация пептида в среде инкубации, при которой наблюдается эффект стимуляции прорастания спор, - 0.1 пМ; 4) максимальный эффект пептида проявлялся в двукратном увеличении доли проросших спор от их общего числа по сравнению с контрольным вариантом, в котором она составляла около 10%; 5) биологическую активность проявляют пептиды, являющиеся продуктами фрагментации как белков с известной функцией, так и новых (predicted) белков *P. patens*. Таким образом, установлено, что компоненты пептидных пулов зеленых мхов могут проявлять физиологическую активность на ранних этапах развития гаметофитов из спор.

ВЛИЯНИЕ КРАУДИНГА НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МАЛЫХ БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА С БЕЛКОМ-МИШЕНЬЮ

Чеботарева Н.А., Роман С.Г., Еронина Т.Б., Филиппов Д.О., Курганов Б.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, 119071, Москва, Ленинский пр. 33

E-mail: chebotareva@inbi.ras.ru

В основе шапероноподобной активности малых белков теплового шока (sHsp) лежит их взаимодействие с белком-мишенью. В клетке краудинг усиливает белок-белковые взаимодействия, в том числе ассоциацию и агрегацию белков. Влияние краудинга на шаперонную активность альфа-кристаллина изучено на тест-системе, основанной на агрегации УФ-облученной мышечной гликогенфосфорилазы *b* (УФ-ФБ). Методом динамического лазерного светорассеяния (ДЛС) на примере предложенной тест-системы экспериментально продемонстрировано стимулирующее действие краудинга на стадии агрегации белков. При изучении агрегации УФ-ФБ при 37°C методом ДЛС показано уменьшение анти-агрегационной активности альфа-кристаллина в присутствии краудинг-агентов (ПЭГ 20000, Фиколла 70000 и триметиламин N-оксида). Методом скоростной седиментации показано образование комплексов между диссоциированными формами sHsp и белковым субстратом при физиологической температуре. Показано существование двух типов комплексов шаперон-белок-мишень в условиях краудинга: один тип комплексов относительно устойчив к агрегации, в то время как другой тип комплексов агрегирует в условиях краудинга, что приводит к снижению антиагрегационной активности альфа-кристаллина. Проверена гипотеза, согласно которой быстро образующийся комплекс между альфа-кристаллином и УФ-ФБ подвергается протекающей во времени структурной реорганизации. Для этих целей использована оригинальная методика, когда краудинг-агент (ПЭГ 20000) добавляли к смеси шаперона и УФ-ФБ в разные интервалы времени и изучали кинетику агрегации при 37°C. Таким образом впервые проведена оценка времени полупревращения для структурной перестройки комплекса шаперон-белок-субстрат ($t_{1/2} = 6.5$ мин). Для другой тест-системы, основанной на агрегации апоформы гликогенфосфорилазы *b*, показано по данным седиментационного анализа, что апофермент существует в виде смеси взаимно превращающихся олигомерных форм, которые находятся под контролем краудинга и шаперонов.

Работа поддержана грантами РФФИ (11-04-01271-а, 11-04-00932-а) и Программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология».

СЕКЦИЯ 5

Химия и биология ферментов

**УНИКАЛЬНАЯ СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
АТР-ЗАВИСИМЫХ Lon-ПРОТЕАЗ ПОДСЕМЕЙСТВА А**

Ротанова Т.В.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

E-mail: tatyana.rotanova@ibch.ru

Гомоолигомерные АТР-зависимые Lon-протеазы – ключевые компоненты системы контроля качества белков, поддерживающей сохранность клеточного протеома. Это бифункциональные мультидоменные ферменты, протеолитический (Р) домен которых является серин–лизиновой эндопептидазой, а АТР-азный – белком теплового шока Hsp100 (или AAA⁺-модулем), образованным нуклеотидсвязывающим (NB) и α-спирализованным (Н) доменами. Lon-протеазы деградируют белковые мишени по процессивному механизму и исключительно в условиях сопряжения с гидролизом АТР. Семейство Lon состоит из подсемейств А и В, представители которых включают структурно тождественные Р-домены, различающиеся AAA⁺-модули и экстрадомены разных типов (N-концевой (N) у протеаз LonA и инсерционный (I) у LonB).

Характерной особенностью строения протеаз LonA служит локализация между N-доменом и AAA⁺-модулем вставочного фрагмента последовательности, включающего участок с coiled-coil(CC)-конформацией. Установлено, что этот фрагмент представляет α-спирализованный домен (nH(CC)-домен), который подобен H1-домену AAA⁺-1-модуля шаперона-дезагрегазы ClpB, содержащему инсерционный M-домен с CC-структурой. На основе сравнительного анализа первичных и вторичных структур бактериальных и эукариотических LonA-протеаз установлена доменная организация общего пула ферментов: nN–N–nH(CC)–NB–H–P, где домены NB и H формируют AAA⁺-модуль, а препоследовательность nN обнаруживается только у ферментов эукариот. Проведена оценка подобия индивидуальных доменов ферментов, выявлены междоменные линкерные зоны, обнаружены области, способные к включению вставочных пептидных фрагментов.

Сделано заключение об уникальной структурной организации LonA-протеаз, обладающих признаками как AAA⁺-белков класса II (наличие одного полноценного AAA⁺-модуля), так и AAA⁺-белков класса I (наличие α-спирализованного домена, nH(CC), – потенциального компонента другого AAA⁺-модуля).

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 11-04-01015).

**ДОМЕННАЯ СТРУКТУРА ПСИХРОФИЛЬНОЙ ПРОТЕИНАЗЫ
ИЗ *SERRATIA PROTEAMACULANS* (PSP)**

Михайлова А.Г.¹, Горленко В.А.², Гришкова М.В.^{1,2}, Овчинникова М.В.^{1,2},
Румш Л.Д.¹

¹Федеральное государственное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, г. Москва, 117997, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский педагогический государственный университет», г. Москва, 119991, ГСП-1, ул. М. Пироговская, д. 1, стр. 1

E-mail: anna.mikhailova@ibch.ru

Изучены факторы, влияющие на термостабильность психрофильной олигопептидазы В из психротолерантного грам-отрицательного микроорганизма *Serratia proteamaculans* (PSP). Впервые обнаружен эффект термостабилизации PSP глицерином. Выявлена дестабилизация PSP ионами Ca²⁺ и буферными растворами низкой молярности. Обнаружен эффект термостабилизации PSP комплексообразованием с шаперонином GroEL *Escherichia coli*.

Конформационные перестройки белковой глобулы PSP при термоденатурации были исследованы с помощью спектров собственной флуоресценции. Обнаружено, что в ходе инкубации при 37°C интенсивность флуоресценции PSP падает, а длина волны максимума сдвигается в длинноволновую область. В присутствии 50 мМ Ca²⁺ падение интенсивности флуоресценции резко возрастает, а в присутствии 50% глицерина - практически не изменяется. Обнаружена полная аналогия временной зависимости потери ферментативной активности PSP и уменьшения интенсивности собственной флуоресценции при 37°C.

С помощью высокочувствительной дифференциальной сканирующей калориметрии (ВЧ-ДСК) определена температура плавления белковой глобулы PSP. Показано, что молекула белка состоит из двух независимых структурных доменов - С-концевого каталитического и N-концевого бета-пропеллерного - с температурой денатурации в интервалах 40,2 - 43,1°C и 44,8 - 46,4°C, соответственно. Низкая температура денатурации соответствует психрофильному характеру PSP. ВЧ-ДСК также продемонстрировала дестабилизацию PSP ионами Ca²⁺. При этом показано, что ионы кальция в основном влияют на более стабильный N-концевой бета-пропеллерный домен.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 10-04-01381).

МОДИФИКАЦИЯ РЕКОМБИНАНТНОЙ IgA1 ПРОТЕАЗЫ *N. MENINGITIDIS*

Зинченко А.А., Гордеева Е.А., Мелихова Т.Д., Нокель Е.А., Серова О.В., Аллилуев А.П., Котельникова О.В., Дрожжина Е.Ю., Ситникова Е.А., Румш Л.Д.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук. 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

E-mail: alezina@mail.ru

IgA1 протеазы, протеолитические ферменты с молекулярной массой более 100 kDa, высокоспецифичные в отношении IgA1 приматов, являются одним из факторов патогенности ряда бактерий, в частности, *N. meningitidis*. Расщепляя секреторные IgA1 антитела на поверхности слизистых оболочек человека, ферменты разрушают первую линию иммунной защиты организма. Идея использования этих ферментов в качестве поливалентной вакцины против инфекций, вызываемых микроорганизмами, секретирующими IgA1 протеазу, основана на высокой гомологии ферментов из различных бактерий и выраженной иммуногенной и протективной активности IgA1 протеазы в отношении менингококков трех основных эпидемических серогрупп А, В и С.

Цель настоящей работы – используя химическую модификацию и ограниченный протеолиз, получить ряд модифицированных производных рекомбинантной IgA1 протеазы, лишенных ферментативной активности и потенциально способных снизить антигенную нагрузку на организм в процессе иммунизации. В результате проведенных исследований разработаны новые конструкции рекомбинантной плазмидной ДНК, кодирующей последовательность IgA1 протеазы, содержащей His-метку в С-концевой области и не содержащей сигнального пептида, и на их основе созданы штаммы *E. coli* BL21(DE3), продуцирующие активный и мутантный (S²⁶⁷/A²⁶⁷) фермент в виде телец включения. Разработаны методы выделения и очистки рекомбинантных ферментов. Химической модификацией IgA1 протеазы осуществлено ацилирование ε-аминогрупп остатков лизина методом активированных эфиров, используя в качестве ацилирующих агентов метокси-поли(этиленгликоль)_n-сукцинимидилсукцинаты с молекулярными массами 2, 5 и 10 kDa, а укороченные аналоги получены ограниченным расщеплением IgA1 протеазы под действием ряда протеолитических ферментов. Исследованы серологические свойства продуктов химической и ферментативной модификации, изучены иммунологические и протективные свойства ряда соединений, оценены их перспективы в качестве активных компонентов противоменингитной поливакцины.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» и гранта РФФИ 11-04-00895-а.

МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ И АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩИЙ ФЕРМЕНТ ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМЕ ШЕЙКИ МАТКИ

Соловьева Н.И.¹, Рыжакова О.С.¹, Кугаевская Е.В.¹, Андреева Ю.Ю.², Завалишина Л.Э.²

¹ФГБУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича» РАМН, 119121, Москва, ул. Погодинская, д.10 корп. Б

²ФГБУ Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А.Герцена Минздрава РФ, Москва

E-mail: Nina.Solovyeva@ibmc.msk.ru

Рост и развитие опухоли, ее способность к инвазии и метастазированию определяются ее деструктивными свойствами и степенью ее васкуляризации. Матриксные металлопротеиназы (ММП) играют ключевую роль в развитии деструктивных процессов матрикса и освобождают связанный с матриксом эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF) – основной индуктор ангиогенеза. Уровень экспрессии и активности ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) – ключевого фермента ренин–ангиотензиновой системы (РАС) определяет ее вклад в ангиогенез через ангиотензин II и его рецепторы, что может приводить к индукции синтеза VEGF, стимулирующего пролиферацию эндотелиальных клеток сосудов. Цель исследования – выяснение особенностей экспрессии ключевых факторов инвазии ангиогенеза при плоскоклеточной карциноме шейки матки, а именно - ММП-1,-2,-9, их эндогенных регуляторов, а также АПФ. Исследования проведены на опухолевой и прилегающей к опухоли морфологически нормальной ткани, а также на тканях всего органа - матки, начиная от стенки влагалища до дна полости матки. В большинстве образцов опухоли происходит увеличение экспрессии и активности ММП-1 и ММП-9, а также снижение экспрессии тканевых ингибиторов металлопротеиназ ТИМП-1 и ТИМП-2, и в меньшей степени изменение экспрессии ММП-2. В образцах тканей на протяжении от стенки влагалища до дна полости матки высокая экспрессия ММП-1, -2, -9 наблюдалась не только в опухолевой и прилегающей к опухоли ткани, но и в нормальной ткани до дна полости матки. Экспрессия ММП-2 изменялась незначительно и оставалась высокой до дна полости матки, в то время как экспрессия ММП-9 в этом направлении существенно снижалась. Предполагается, что ММП-2 и ММП-9 могут выполнять некоторые различные функции в процессе развития опухоли. Экспрессия ТИМП-1 и ТИМП-2 в этих образцах находилась на очень низком уровне или отсутствовала. Активность АПФ в большинстве образцов опухолевой ткани была существенно повышена по сравнению с активностью в прилегающей к опухоли морфологически нормальной ткани. Данные важны для понимания механизма развития инвазивного процесса, могут иметь прогностическое значение, влиять на терапевтическую стратегию, а также определять мишени для разработки фармакологических средств. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант №10-04-01573.

АКТИН-СВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ, ИХ РЕГУЛЯЦИЯ И СВЯЗЬ С ИНВАЗИЕЙ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Кондакова И.В., Юнусова Н.В., Коваль В.Д., Коломиец Л.А., Чернышова А.Л.

ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, 634050, г. Томск, пер. Кооперативный, д.5

e-mail: Kondakova@oncology.tomsk.ru

Приобретение клетками способности к передвижению имеет важное значение для инвазии и метастазирования и требует ремоделирования актинового цитоскелета актин-связывающими белками. Экспрессия этих белков, может регулироваться внутриклеточными протеазами, среди которых наиболее важными являются протеасомы и кальпаины. Цель настоящей работы состояла в исследовании экспрессии Arp3, гельзолина, кофилина-1 и тимозина- β 4 в тканях рака эндометрия и яичников в связи с процессами инвазии и метастазирования. Также была исследована связь экспрессии актин-связывающих белков с химотрипсинподобной активностью протеасом и активностью кальпаинов.

Экспрессия актин-связывающих белков (Arp3, гельзолина, кофилина-1 и тимозина- β 4) была оценена в образцах злокачественных опухолей яичников (ткань опухоли и имплантационные метастазы) и в образцах эндометриальной карциномы эндометрия с использованием метода проточной цитометрии. Активность протеасом и кальпаинов определялась флуориметрическим методом. Взаимосвязь экспрессии белков, участвующих в ремоделировании актинового цитоскелета (гельзолина, кофилина-1 и тимозина- β 4) с глубиной инвазии опухоли в миометрий показана для больных раком эндометрия. Экспрессия актинсвязывающих белков (Arp3, гельзолина и кофилина-1) была выше в перитонеальных метастазах рака яичников по сравнению с первичной опухолью и метастазами рака яичников в большой сальник. Экспрессия гельзолина и кофилина-1 в ткани рака яичников также была связана со стадией заболевания и гистологическим типом опухоли. Корреляционный анализ показал взаимосвязь экспрессии тимозина, кофилина и Arp3 с химотрипсинподобной активностью протеасом и экспрессии тимозина с активностью кальпаинов в ткани рака эндометрия. Результаты исследования позволяют сделать фундаментальные выводы о важном вкладе актин-связывающих белков в инвазию и метастазирование опухолей. Полученные данные позволяют предположить наличие протеолитической регуляции содержания актин-связывающих белков в ткани рака эндометрия. Вероятно, деградация протеасомами тимозина, кофилина и Arp3 вносит вклад в регуляцию экспрессии этих белков, также возможно модулирующее воздействие на тимозин кальпаинов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 13-04-00169).

**ГЛУТАМИН- И ПРОЛИН-СПЕЦИФИЧНЫЕ ПЕПТИДАЗЫ
НАСЕКОМЫХ-ВРЕДИТЕЛЕЙ ЗЕРНОВЫХ ЗАПАСОВ И
АУТОИММУННОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ ЦЕЛИАКИЯ**

Элпидина Е.Н.¹, Филиппова И.Ю.², Гоптарь И.А.², Семашко Т.А.²,
Мартынов А.Г.³, Смирнова Ю.А.¹, Воротникова Е.А.³, Шарикова В.Ф.²

¹НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ
им. М.В.Ломоносова, Москва, 119991, Ленинские горы, д.1, стр. 40

²Химический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, 119991,
Ленинские горы, д.1, стр. 3

³Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ им. М.В.Ломоносова,
Москва, 119991, Ленинские горы, д.1, стр. 73

E-mail: elp@belozersky.msu.ru

Tenebrio molitor и *Tribolium castaneum* являются жуками-вредителями зерновых запасов. Главными пищевыми белками этих насекомых являются проламины: глутамин- и пролин-богатые запасные белки семян злаковых растений, которые являются также важными компонентами пищи человека. В их состав входят негидролизующие человеческими пептидазами глутамин- и пролинбогатые пептиды, вызывающие аутоиммунное заболевание целиакию у чувствительных людей. Лекарства от целиакии нет, и больным предлагается полный отказ от продуктов, содержащих проламины пшеницы, ржи и ячменя. Ранее было показано, что комплекс пищеварительных пептидаз тенебрионид существенно отличается от человеческого. Мы предположили, что в состав комплекса насекомых могут входить глутамин- и пролинспецифичные пептидазы, способные гидролизовать трудногидролизующие пептиды проламинов и пригодные для лечения целиакии. Использование специфических хромогенных субстратов позволило выявить соответствующие протеолитические активности в кишечниках личинок этих насекомых. Оказалось, что глутаминспецифичная активность принадлежит цистеиновым катепсинам L и B из семейства C1. Пролинспецифичной активностью обладают пищеварительные дипептидилпептидаза IV, пролилкарбоксипептидаза и предположительно пролидаза, а также непищеварительный тканевый фермент пролилолигопептидаза. Наиболее высокоэкспрессируемые катепсины L и B из кишечника личинок были выделены, очищены, идентифицированы с использованием масс-спектрометрических методов и охарактеризованы. Изучена субстратная специфичность; подробно охарактеризованы очищенные препараты пролинспецифичных пептидаз из личинок *T. molitor*. кДНК пролилкарбоксипептидазы клонирована и определена первичная структура этого фермента. Показано участие глутамин- и пролинспецифичных пептидаз в гидролизе проламинов пшеницы глиадинов. Предложена гипотетическая схема полного гидролиза глутамин- и пролинбогатых фрагментов глиадинов специфичными пищеварительными пептидазами из личинок *T. molitor* и подтверждена экспериментально ее первая стадия. Работа поддержана грантами РФФИ 12-03-01057-а, 12-04-01562-а и 12-04-31451-мол-а.

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА РЕЦЕПЦИИ ЭТИЛЕНА МЦП-1 НА ФЕРМЕНТЫ ПРО-/АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ГРИБНОМ ПАТОГЕНЕЗЕ

Веселова С.В., Нужная Т.В., Максимов И.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, 450054, г. Уфа, пр. Октября, 71

E-mail: phyto@anrb.ru

Ряд растительных ферментов – оксидаз, вовлеченных в продукцию и утилизацию активных форм кислорода (АФК), объединяют в единую про-/антиоксидантную систему, которая находится под контролем фитогормонов, в том числе этилена. Наиболее важными среди них являются оксалактоксидазы (ОО), пероксидазы (ПО) и каталазы, активность которых была нами проанализирована под влиянием ингибитора рецепции этилена МЦП-1 и инфицирования гемибиотрофным патогенным грибом *Septoria nodorum* Berk в двух контрастных по устойчивости сортах растений пшеницы.

Первой защитной реакцией растений на «атаку» патогенов считается накопление АФК в зоне инфицирования, которое происходит с разной скоростью у устойчивых и неустойчивых форм. У восприимчивого сорта накопление перекиси водорода (H_2O_2), активация ОО, ПО и каталазы при инфицировании грибом запаздывала, по сравнению с устойчивым сортом пшеницы. Обработка листьев растений этого сорта ингибитором рецепции этилена МЦП-1 приводила к более раннему и интенсивному накоплению H_2O_2 , а также к более быстрой и интенсивной активации ОО и ПО при инфицировании, что сопровождалось повышением устойчивости таких растений к патогену. Действие ингибитора МЦП-1 на устойчивый сорт было сходным. Мы наблюдали более интенсивное накопление H_2O_2 и более высокую активность ОО и ПО, но в те же сроки, что у инфицированных не обработанных ингибитором растений. Интересно, что активность каталазы при инфицировании в условиях действия ингибитора МЦП-1 подавлялась в растениях обоих сортов, на фоне повышения активности ОО и ПО, что возможно и приводило к более интенсивному накоплению H_2O_2 .

Таким образом, полученные нами результаты указывают на то, что рецепция этилена в растениях является одним из ключевых факторов, негативно влияющих на их защитный ответ при инфицировании, который проявляется в том числе и в регуляции активности ферментов про-/антиоксидантной системы.

СЕКЦИЯ 6

**Инновационные лекарственные средства
на основе пептидов и белков.
Механизмы действия**

**ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКОВОГО
ОСТЕОИНДУКТОРА ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОКОМПОЗИТНОГО
МАТРИКСА ДЛЯ РЕКОНСТРУКТИВНОЙ И ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ
ОСТЕОПЛАСТИКИ**

Есипов Р.С.¹, Степаненко В.Н.¹, Ярославцева А.К.¹, Никонова Ю.А.²,
Селезнева И.И.²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки *Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук*, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10.

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки *Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук*, 142290, г. Пушкино, Московская обл., ул. Институтская, 3

E-mail: esipov@ibch.ru

Согласно современным экспериментальным и клиническим исследованиям, остеоиндуктивность остеопластических материалов, содержащих рекомбинантные костные морфогенетические белки (rhBMP), равна или превосходит остеоиндуктивность аутологичного костного материала. В данной работе для исследования совместного использования rhBMP с ксеногенным деминерализованным костным матриксом получен рекомбинантный костный морфогенетический белок 2 (rhBMP-2).

Оптимизированную под прокариотическую экспрессию последовательность, несущую ген *bmp2*, получали химико-ферментативным способом и клонировали в плазмидный вектор pET23b+. Полученный экспрессионный вектор pER-BMP2 использовали для получения штамма-продуцента rhBMP-2 на основе клеток *E. coli* Origami™ (DE3). Отличительной особенностью созданного штамма-продуцента является то, что в процессе биосинтеза целевой белок (rhBMP-2) получается сразу в активной форме - в виде гомодимера. Первой стадией выделения rhBMP-2 была катионообменная хроматография, затем остатки мономера отделяли на аффинной колонке с гепарин-сефарозой и далее проводили финишную очистку посредством ОФ ВЭЖХ.

Оценку влияния rhBMP-2 на дифференцировку клеток человека в остеогенном направлении проводили с использованием клеток-предшественников, выделенных из кожно-мышечной ткани эмбриона и зачатка третьего месяца взрослого человека. По своим морфологическим и фенотипическим свойствам (CD44⁺, CD90⁺, CD105⁺, CD34⁻, CD45⁻ и HLA-DR⁻) эти клеточные популяции аналогичны мезенхимальным стволовым клеткам человека. Определение степени кальцификации и уровня экспрессии клетками щелочной фосфатазы при культивировании в течение недели показало значимое различие с контролем при введении в культуральную среду rhBMP-2 в диапазоне концентраций 20-100 мкг/мл.

МОДИФИКАЦИЯ ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА КРОВИ С ПОМОЩЬЮ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ЦИКЛОФИЛИНА А

Морозов Ю.А.², Калинина А.А.¹, Хромых Л.М.¹, Казанский Д.Б.¹

¹НИИ канцерогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина» РАМН, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» РАМН, Москва, 119991, Москва, Абрикосовский пер., 2

E-mail: moroz_111@rambler.ru

Цель работы: изучение влияния рекомбинантного человеческого циклофилина А (рчЦфА) на параметры системы гемостаза *in vitro* и *in vivo*.

Для исследования *in vitro* использовали инкубацию (в течение 3, 10 и 30 мин) богатой и бедной тромбоцитами плазмы крови человека с рчЦфА в конечной концентрации 10 мкг/мл. Исследовали количество и агрегационные свойства тромбоцитов, тромбиновое время (ТВ, сек), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ, сек), протромбиновое время (ПТВ, сек), анти-Ха-активность плазмы (Ед/мл), концентрации тромбоспондина (ТС, пг/мл) и тромбомодулина (ТМ, пг/мл). Исследование *in vivo* проводили на мышах C57BL/6 (H-2^b) весом 20-22 гр. Анализ антикоагулянтного действия рчЦфА в системе *in vivo* проводили путем определения анти-Ха-активности плазмы крови интактных, иммунных и сублетально облученных мышей.

Результаты. Не выявлено влияния рчЦфА на количество тромбоцитов независимо от времени инкубации. Коллаген-индуцированная агрегация возрастала через 3 мин. на 68,5%, через 10 мин. - на 49,4%, через 30 мин инкубации - на 42,7% относительно контроля. Через 10 мин. инкубации под влиянием рчЦфА отмечалось достоверное увеличение АЧТВ. Анти-Ха-активность плазмы крови возрастала в 8 раз относительно контрольных значений и эффект сохранялся до 60-й минуты инкубации. При нормальной агрегационной функции тромбоцитов рчЦфА достоверно не влиял на уровень ТМ и ТС, в то время как при сниженной функции тромбоцитов отмечено достоверное снижение концентрации этих белков. Введение ЦфА (100 мкг/мышь) в течение 7 дней после иммунизации аллогенными клетками мастоцитомы Р815 ведет к усилению ингибирования фактора Ха, достигая 0,6 анти-Ха-Ед/мл. У сублетально облученных мышей (4,5 Gy) введение рчЦфА в течение 7 дней после облучения приводило к увеличению анти-Ха-активности плазмы до 0,8 анти-Ха-Ед/мл.

Выводы. Рекомбинантный человеческий циклофилин А способен модифицировать гемостатический потенциал крови, обладая гепариноподобным действием, который может быть обусловлен способностью данного белка усиливать связывание фактора Ха и тромбоспондина, а также тромбина и тромбомодулина.

ПЕПТИДЫ В КОРРЕКЦИИ СИМПТОМОВ СИНДРОМА ХРОНИЧЕСКОЙ УСТАЛОСТИ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ (ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ)

Соллертинская Т.Н.¹, Шорохов М.В.¹, Мясоедов Н.Ф.²

¹*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, 194233, г. Санкт-Петербург, пр-т М. Тореца, 44*

²*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук, 123182, г. Москва, пл. Курчатова, 2*

E-mail: tns-peptidus@mail.ru

В настоящее время к одним из тяжёлых и распространённых в мире патологических состояний относят синдром хронической усталости (СХУ), характеризующийся необъяснимым чувством усталости, общей слабости, нарушением когнитивной деятельности. Экспериментальные данные по моделированию СХУ единичны, выполнены на грызунах в плане изучения иммунологических показателей; на приматах – отсутствуют. Пептидная церебропротекция основных симптомов СХУ не исследована. Цель работы – создание экспериментальной модели СХУ у грызунов и приматов с изучением роли Селанка (Сел) в компенсации нарушенных при СХУ функций мозга. Опыты выполнены на крысах и обезьянах как в свободном поведении так и с фиксацией животных для снятия объективных (ЭЭГ, вегетативных, моторных) показателей ВНД с дальнейшей компьютерной обработкой. У крыс применение комплекса истощающих воздействий сопровождалось развитием нарушений ВНД; изменениями эмоциональной и двигательной активности, характерными для СХУ. Нарушения врождённых форм поведения значительны и длительны. Сел осуществлял кратковременное компенсаторное влияние. У обезьян выделены 3 стадии развития СХУ: раннюю, ярких проявлений и позднюю. Динамика вовлечения различных функциональных систем в развитии СХУ установлена. На ранних стадиях СХУ изменения имеют место со стороны когнитивных функций и эмоционально-психической сферы. На 2-й стадии СХУ у обезьян выявлялись: быстрая утомляемость, снижение работоспособности, внимания, неустойчивость психо-эмоционального состояния, когнитивный дефицит. На 3-й стадии СХУ – нарастание тревожного состояния и агрессии. Неоднократно интраназально введённый Сел длительно купировал эти нарушения. Компенсаторные эффекты развивались постепенно: на фоне Сел работоспособность возрастала, ЭЭГ нормализовалась по амплитудно-частотному спектру. Эмоционально-психологические и когнитивные нарушения нивелировались позже. Обсуждён вопрос о более специализированном применении Сел у пациентов с СХУ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта РФФИ № 12-08-00786.

**СОЧЕТАННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ СЕЛАНКА И
БЕНЗОДИАЗЕПИНОВЫХ ТРАНКВИЛИЗАТОРОВ – НОВАЯ СХЕМА
ТЕРАПИИ ТРЕВОЖНЫХ РАССТРОЙСТВ**

Кост Н.В.¹, Мешавкин В.К.¹, Терещенко О.Н.¹, Соколов О.Ю.¹,
Нестерова А.В.¹, Медведев В.Э.², Вьюнова Т.В.³, Мясоедов Н.Ф.^{1,3}

¹ *Федеральное государственное бюджетное учреждение Научный центр
психического здоровья РАМН, 115522, г. Москва, Каширское шоссе, 34*

² *Российский Университет дружбы народов 117198, г. Москва, ул. Миклухо-
Маклая, д. 8*

³ *Федеральное государственное бюджетное учреждение Институт
молекулярной генетики РАН 123182, г. Москва, пл. Академика Курчатова, 2*

E-mail: nat-kost@yandex.ru

ГАМК-А рецепторы являются фармакологической мишенью наиболее распространенных в настоящее время анксиолитиков – бензодиазепиновых транквилизаторов. Поэтому для создания новых анксиолитических препаратов логично в первую очередь рассматривать их взаимодействие именно с этими рецепторами. Радиолигандным методом показано, что пептидный анксиолитик Селанк взаимодействует с ГАМК-А рецепторами по механизму, сходному с диазепамом. При малых концентрациях оба препарата усиливают рецепторное связывание ³H-ГАМК. При этом в присутствии Селанка, а также его 5- и 3-пептидных С-концевых фрагментов, специфическое связывание ³H-диазепама снижается в 2-4 раза. Таким образом, можно предположить, что Селанк взаимодействует с бензодиазепиновым участком связывания ГАМК-А рецептора. В экспериментах на животных показано, что Селанк при совместном введении с диазепамом и мезапапом не уменьшает их анксиолитический эффект и ослабляет седативное и миорелаксирующее действие в тесте приподнятый крестообразный лабиринт. Кроме того Селанк ослабляет угнетение двигательной активности мышей, вызванное диазепамом и антипсихотиком бензодиазепиновой природы оланзапином. На основании экспериментальных данных было начато клиническое исследование эффективности и переносимости комплексного применения Селанка и бензодиазепинового транквилизатора феназепама при терапии тревожных расстройств. Предварительные результаты этого исследования показали, что сочетанное применение Селанка с феназепамом, как минимум, не уменьшает анксиолитическое действие последнего и ослабляет его негативные побочные эффекты, такие как седация и нарушение когнитивных функций, то есть повышает эффективность и безопасность терапии расстройств тревожного спектра.

Работа выполнена при финансовой поддержке ЗАО «Инновационный научно-производственный центр «Пептоген» и РФФИ грант № 11-08-01327.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОТСТАВЛЕННЫХ ЭФФЕКТОВ НЕГАТИВНЫХ НЕОНАТАЛЬНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ И ПОИСК ПУТЕЙ ИХ КОРРЕКЦИИ

Левицкая Н.Г.¹, Глазова Н.Ю.¹, Себенцова Е.А.¹, Манченко Д.М.²,
Кудрин В.С.³, Долотов О.В.¹, Мясоедов Н.Ф.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики РАН, 123182, г. Москва, пл. Курчатова, д.2

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования МГУ имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр.12

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фармакологии им. В.В. Закусова РАМН, 125315, г. Москва, Балтийская ул., 8

E-mail: nlevitskaya@gmail.com

Ранний неонатальный период жизни играет важную роль в развитии и становлении организма. Стрессогенные или фармакологические воздействия на данном этапе развития могут привести в дальнейшем к значимым негативным изменениям организма. Хотя рядом авторов выявлена корреляция между неонатальными воздействиями и нарушениями поведения взрослого человека, вопрос этот недостаточно исследован. Эксперименты на животных с использованием различных аверсивных воздействий позволяют определить зависимость отставленных изменений от срока и природы воздействия и способствуют поиску методов коррекции их последствий. Гептапептид семакс (МЕНFPGP) является аналогом фрагмента АКТГ(4-10), обладающим пролонгированным нейротропным действием. Семакс используется в медицине в качестве ноотропного и нейропротекторного препарата. Показано, что хроническое неонатальное введение семакса вызывает отставленные положительные изменения поведения животных. Проведенные нами эксперименты показали, что неонатальное стрессогенное воздействие приводит к повышению эмоциональности и тревожности, замедлению физического развития, нарушению метаболических процессов и ослаблению гормонального ответа животных на острый стресс. Последующее введение семакса ослабляет негативные эффекты неонатального стресса. Хроническое введение селективного ингибитора обратного захвата серотонина - флувоксамина детенышам белых крыс приводит к замедлению соматического роста, повышению уровня тревожности и ухудшению способности животных к обучению. Кроме того, у животных, получавших флувоксамин, наблюдается изменение функциональной активности системы биогенных аминов мозга. Хроническое введение семакса в значительной степени компенсирует негативные последствия введения флувоксамина. Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения семакса для лечения патологий у детей в ранний постнатальный период.

Работа поддержана Программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология», Программой «Ведущие Научные Школь» (НШ 2628.2012.4) и РФФИ (грант № 11-04-01329).

СЕМАКС ЗАЩИЩАЕТ СЕРДЦЕ ОТ РЕПЕРFUЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ЧЕРЕЗ СДЕРЖИВАНИЕ АКТИВНОСТИ СИМПАТИЧЕСКОГО ОТДЕЛА ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Гаврилова С.А., Бердалин А.Б., Голубева А.В., Беневоленская А.Д., Буравков С.В., Кошелев В.Б.

Факультет фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, 119192, г. Москва, Ломоносовский проспект, д.31, корп.5

E-mail: sgavrilova@mail.ru

Исследовали кардиопротекторное действие пептида Семакс через его влияние на симпатический отдел вегетативной нервной системы у крыс с инфарктом миокарда (ИР). ИР моделировали на самцах *Rattus norvegicus* методом Селье, на 2,5 часа ишемизировали левую коронарную артерию, с последующей реперфузией. Семакс вводили в/бр. в дозе 150 мг/кг через 15 минут и через 2 часа 15 минут, а затем еще 4 суток каждые 24 часа от начала коронароокклюзии. Через 72 часа, после операции оценивали состояние сердечно-сосудистой системы с фармакологическими нагрузками добутамином (1–6 мкг/кг*мин), фенилэфрином (3–25 мкг/кг*мин). Пробы на микроскопию, световую и электронную, на иммуногистохимические исследования уровня апоптоза в этот же срок. Ремоделирование миокарда, окраску нервных симпатических окончаний и оценку плотности адренергических рецепторов оценивали через 28 суток после операции в сердце и сосудах разных регионов. Оценивали общее морфологическое состояние ткани; число межмитохондриальных контактов (ММК) на 100 митохондрий; индекс апоптоза и относительную плотность симпатических окончаний, в крови динамику катехоламинов.

Результаты. Кардиопротекторный эффект Семакса направлен на защиту миокарда, непосредственно не задетого ишемией. Пептид не влияет на размер некроза (13-17% от объема левого желудочка – 3 сутки после ИМ; 95-115 мг – вес рубца через 28 суток), но отсрочивает ультраструктурные нарушения в кардиомиоцитах; снижает число ММК контактов. В хронический постинфарктный период действие препарата обуславливает меньшую гипертрофию и оптимальное соотношение объема миофибрилл и митохондрий в кардиомиоцитах. На физиологическом уровне в покое через 3 суток после ИР у животных снижены частота и сила сокращения сердца. В ответ на добутамин сердце животных с Семаксом развивает большую силу сокращения, чем инфарктный контроль. Реакция артериального давления на инфузию фенилэфрина в группе с ИР снижена в два раза по сравнению с возрастной нормой; Семакс нормализует альфа опосредованный ответ артериального давления в сторону интактного контроля. Семакс сдерживает увеличение концентрации норадреналина через 24 часа после операции. Через 28 суток после ИР пептид сдерживает увеличение объемной плотности нервных окончаний. Результат сопровождается существенным снижением уровня апоптоза во всех исследованных отделах сердца.

**ТЕТРАПЕПТИД LYS-GLU-ASP-TRP РЕГУЛИРУЕТ ЭКСПРЕССИЮ
ГЕНОВ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ
ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Хавинсон В.Х.^{1,3}, Ашапкин В.В.², Линькова Н.С.³, Тарновская С.И.³,
Ванюшин Б.Ф.²

¹Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО
РАМН, 197110, г. Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3

²НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Московский
государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119899, г. Москва,
Ленинские горы, д. 1, стр. 40

³Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, 199034, г. Санкт-
Петербург, наб. Макарова, д.6

E-mail: miauu@yandex.ru

Экспрессия генов транскрипционных факторов дифференцировки необходима для поддержания функциональной активности клеток поджелудочной железы, а нарушение эпигенетической регуляции этого процесса является причиной развития сахарного диабета.

Целью работы явилось изучение влияния тетрапептида Lys-Glu-Asp-Trp на синтез белков и экспрессию генов, кодирующих транскрипционные факторы дифференцировки различных типов клеток поджелудочной железы. Исследование проводили на культурах клеток поджелудочной железы человека М1А РаСа-2. Второй пассаж клеток расценивали как «молодые» культуры, 14 пассаж - как «старые» культуры. Культуры клеток разделили на 2 части: 1 (контроль) – добавление физиологического раствора, 2 – добавление пептида (20 нг/мл). Установлено, что пептид обладает выраженным панкреопротекторным действием в модели аллоксанового сахарного диабета у крыс. Количество белков Ptf1a, Рах6, FoxA2 измеряли методом иммуноцитохимии, а концентрацию соответствующих мРНК - методом количественного ПЦР-анализа.

Добавление пептида приводило к повышению количества изучаемых белков в клетках «молодых» и «старых» культур: Ptf1a - на 15% и в 4 раза соответственно; Рах6 - на 15% и в 2 раза соответственно. Количество белка FoxA2 оставалось неизменным в клетках «молодых» культур и увеличивалось на 60% в клетках «старых». Изучение уровня экспрессии гена Ptf1a в клетках «молодых» и «старых» культур показало увеличение на 80% и 20% соответственно; гена Рах6 - в 1,8 и 2 раза соответственно; гена FoxA2 - на 30% и 50% соответственно. Пептид Lys-Glu-Asp-Trp активирует экспрессию генов Ptf1a, Рах6, FoxA2, что способствует усилению синтеза (особенно в клетках «старых» культур) соответствующих белков, участвующих в дифференцировке клеток поджелудочной железы. Следовательно, протекторный эффект пептида, наблюдаемый при сахарном диабете и панкреатите, обусловлен пептидергической регуляцией экспрессии генов и синтеза белков, участвующих в развитии различных типов клеток поджелудочной железы.

ЛАКТАПТИН - ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ПЕПТИД ЖЕНСКОГО МОЛОКА

Рихтер В.А.¹, Коваль О.А.¹, Каледин В.И.², Фомин А.С.¹, Потапенко М.О.¹, Кулигина Е.В.¹, Семенов Д.В.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск 630090, Пр. Лаврентьева, 8

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск 630090, Пр. Лаврентьева, 10

E-mail: richter@niboch.nsc.ru

В сообщении представлены данные о проведении доклинических испытаний противоопухолевого препарата на основе пептида женского молока – лактаптина.

Показано, что препарат вызывает апоптоз раковых клеток человека различного тканевого происхождения и не влияет на жизнеспособность немалигнизированных клеток в системе *in vitro*.

Разработана схема подавления роста злокачественных опухолей человеческого происхождения на моделях ксенографтных мышей SCID.

Установлено, что лактаптин, проникая внутрь раковых клеток, вызывает увеличение проницаемости митохондриальных мембран и активирует инициаторные каспазы -8 и -9. Сделан вывод о том, что инициация апоптоза под действием лактаптина проходит как по рецептор-опосредованному, так и по митохондриальному пути.

На основании полученных экспериментальных данных предложена модель механизма апоптотической гибели клеток MCF-7, индуцируемой рекомбинантным аналогом лактаптина RL2, включающая взаимодействие RL2 с белками цитоскелета и активацию белка p53, что приводит к индукции рецепторного и митохондриального путей апоптоза и последующей гибели клетки.

Работа поддержана грантами: ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» ГК № 16.N08.12.1009.

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПЕПТИДНОЙ РЕГУЛЯЦИИ
ФУНКЦИИ БРОНХИАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ ПРИ ПАТОЛОГИИ**

Башарина В.С., Линькова Н.С., Дудков А.В.

Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии СЗО РАМН,
197110, г. Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3

E-mail: miayu@yandex.ru

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) занимает 4 место в мире среди причин смертности у лиц старшей возрастной группы. В основе молекулярного механизма развития ХОБЛ лежит нарушение экспрессии матриксной металлопротеиназы 9 (ММР9) и проапоптотического белка p53 (Mathew V. et al., 2011). Пептид Ala-Asp-Glu-Leu способствует восстановлению функции легких в модели острого и хронического фиброзного воспаления легких (Хавинсон В.Х. и соавт., 2011; Khavinson V.Kh. et al., 2009). Целью работы явилось исследование действия пептида Ala-Asp-Glu-Leu на экспрессию сигнальных молекул в культурах клеток легких человека.

Объектом изучения явилась эмбриональная культура клеток бронхиального эпителия FLECH 1-го и 14-го пассажа. В контрольные культуры клеток добавляли физиологический раствор, в опытные культуры вводили пептид (20 нг/мл). Клетки культивировали в среде иMEM с добавлением L-глутамина, 10% сыворотки плодов коровы SC-BIOL и 1% раствора пенициллина-стрептомицина. Для иммуноцитохимического исследования использовали первичные моноклональные антитела к ММР9 и p53 и вторичные антитела – биотинилированные антимышинные иммуноглобулины. Оценку результатов иммуноцитохимического окрашивания проводили морфометрическим методом с использованием микроскопа Nikon Eclipse E400 и программного обеспечения «Videotest Morphology 5.2» по показателю площади экспрессии.

Пептид способствовал повышению экспрессии ММР9 в 1 пассаже в 2,8 раза - с $4,10 \pm 0,12\%$ в контроле до $11,07 \pm 0,95\%$ и в 14 пассаже – в 3,2 раза с $4,12 \pm 0,14\%$ в контроле до $14,71 \pm 1,13\%$. При этом тетрапептид снижал синтез проапоптотического протеина p53 в 1 пассаже в 1,7 раза - с $5,20 \pm 0,15\%$ в контроле до $3,11 \pm 0,21\%$ и в 14 пассаже – в 2,9 раза с $7,83 \pm 0,71\%$ в контроле до $2,71 \pm 0,22\%$.

Таким образом, в основе молекулярного механизма действия пептида Ala-Asp-Glu-Leu лежит его способность активировать синтез матриксной металлопротеиназы и ингибировать апоптоз клеток бронхиального эпителия, что объясняет эффективность применения этого пептида в моделях ХОБЛ *in vivo*.

РАЗРАБОТКА НОВОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ПЕПТИДА HLDF-6 ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ И ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Липкин В.М.¹, Богачук А.П.¹, Мурашев А.Н.², Ржевский Д.И.², Азев В.И.², Сторожева З.И.³, Шерстнев В.В.³, Золотарев Ю.А.⁴, Ковалев Г.И.⁵, Сурина Е.А.¹, Смирнова Е.В.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая д. 16/10

²Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, г. Пушкино, Московская обл.

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, г. Москва

⁴Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук, г. Москва

⁵Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фармакологии им. В.В. Закусова РАМН, г. Москва

E-mail: vm lipkin@mx.ibch.ru

Ранее из клеток HL-60 промиелоцитарного лейкоза человека нами был выделен новый фактор дифференцировки HLDF (Human Leukemia Differentiation Factor), в составе которого был идентифицирован шестичленный пептид HLDF-6 (TGENHR), полностью воспроизводящий дифференцирующую активность полноразмерного фактора. Пептид HLDF-6 обладает широким спектром ноотропной и нейропротективной активностей. На экспериментальных моделях клинической патологии (болезнь Альцгеймера и ишемический инсульт) показано, что пептид в дозах 1-50 мкг/кг снимает выраженный когнитивный дефицит и способствует восстановлению нарушенной памяти. Нами начаты доклинические испытания пептида HLDF-6. Исследования проводятся на лабораторных животных SPF-статуса в соответствии с Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (М. Медицина, 2005). Согласно результатам, полученным при исследовании острой токсичности, пептид HLDF-6 может быть отнесен к наименее токсичному 5-му классу веществ по системе GHS. На пептид HLDF-6 имеется Российский патент № 2213747. Таким образом, полученные результаты позволяют рассматривать пептид HLDF-6 в качестве перспективного соединения для создания нового ноотропного и нейропротективного лекарственного препарата.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и Государственного контракта № 14.N08.11.0002.

ТЕТРАПЕПТИД КОРТАГЕН КОРРЕКТИРУЕТ ОСНОВНЫЕ СИМПТОМЫ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НА МОДЕЛИ ДРОЗОФИЛЫ

Никитина Е.А.¹, Токмачева Е.В.¹, Медведева А.В.^{1,2}, Попов А.В.³,
Савватеева-Попова Е.В.^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, 199034, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6

² Санкт-Петербургский государственный университет, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, 194223, г. Санкт-Петербург, пр. Тореза, д. 44

E-mail: 21074@mail.ru

Для понимания механизмов функциональных нарушений, лежащих в основе нейродегенеративных заболеваний, и разработки терапевтических подходов необходимы животные модели. Созданная нами с привлечением мутанта *cardinal* (*cd*, накопление 3-гидроксикинуруенина) дрозофилы модель воспроизводит все основные диагностические признаки нейродегенеративных заболеваний человека, проявляя три их ключевых симптома – нарушения памяти и локомоции, а также формирование цитоплазматических амилоидных включений в мозге имаго и во всех личиночных тканях. Эти дефекты наиболее ярко проявляются на фоне применения теплового шока (ТШ). В проведенном исследовании изучали биологическую активность синтетического тетрапептида кортагена (ала-глу-асп-про). Кортаген добавляли в концентрации 0,1 мкг на 1 кг питательной среды. Анализировали эффекты собственно кормления и эффекты ТШ на фоне кормления. Изучение когнитивных особенностей (обучение и память) осуществляли с использованием методики условно-рефлекторного подавления ухаживания; изучение нервно-мышечной координации – при анализе параметров звукопродукции; исследование формирования цитоплазматических амилоидных включений – путем анализа Конго Ред - позитивных включений в личиночных тканях. Показано, что кортаген обладает сильно выраженным терапевтическим действием, нормализуя дефекты памяти мутантов, проявляющиеся после ТШ, и не оказывает угнетающего влияния на формирование памяти в норме. Также кортаген способствует улучшению локомоторной активности и разборке амилоидных включений.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 12-04-01737-а, Программы ПРАН П7 и НИОКР СПбГУ раздела «Биомедицина и здоровье человека» по теме «Разработка модели дрожжи-дрозофила для изучения молекулярных механизмов геномных и спорадических нейродегенеративных заболеваний и скрининга лекарственных препаратов нового поколения».

ЭФФЕКТЫ МЕЛАНКОРТИНОВ В МОДЕЛЯХ ДЕПРЕССИИ

Долотов О.В., Яценко К.А., Иноземцева Л.С., Марков Д.Д.,
Гривенников И.А.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
молекулярной генетики РАН, 123182, г. Москва, пл. Курчатова, 2*

E-mail: dolotov@img.ras.ru

Клиническая, или большая, депрессия является наиболее распространенным психическим расстройством, потенциально угрожающим жизни в связи с повышенным риском суицида и наличием двунаправленных связей между депрессией и соматическими заболеваниями, включая диабет, онкологические заболевания, воспалительные и сердечно-сосудистые патологии. Существующие в настоящее время антидепрессанты имеют в основе своих эффектов фундаментально один известный механизм действия, связанный, как считается, с повышением активности серотонергической и/или норадренергической систем мозга. Основная проблема, связанная с применением этих «моноаминергических» антидепрессантов, заключается в том, что они проявляют выраженные негативные побочные действия и недостаточно эффективны и переносимы для значительной части (по разным оценкам, от 30 до 70%) пациентов, страдающих депрессией. Соответственно, остается актуальным поиск альтернативных фармакологических подходов к лечению депрессии. Исходя из анализа существующих данных о механизмах возникновения депрессии и известных свойств ряда некортикотропных меланокортинов (N-концевые фрагменты адренкортикотропного гормона (АКТГ) и их аналоги), нами выдвинута гипотеза о способности этих пептидов оказывать антидепрессантные эффекты. Для проверки данной гипотезы мы исследовали эффекты периферического введения ряда меланокортинов в двух экспериментальных моделях, вызывающих депрессивноподобное поведение — хронический непредсказуемый стресс и системное воспаление, вызванное введением низких доз бактериального эндотоксина липополисахарида. Хроническое введение эндогенных и синтетических некортикотропных меланокортинов предотвращало в этих моделях развитие у крыс ключевого симптома депрессии — ангедонии. Кроме того, введение данных пептидов предотвращало при хроническом стрессе снижение набора веса, гипертрофию надпочечников и снижение уровня нейротрофического фактора мозга BDNF в гиппокампе крысы. В совокупности, полученные данные свидетельствуют о наличии у ряда некортикотропных меланокортинов антидепрессантных эффектов и о перспективности дальнейшего исследования их потенциала как фармакологических средств лечения и предотвращения депрессии.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 13-04-01690-а).

**ТЕЗИСЫ
СТЕНДОВЫХ ДОКЛАДОВ**

СЕКЦИЯ 1

Методы разделения, очистки и анализа
первичной структуры.
Выделение новых природных объектов.
Пептидомика. Протеомика.

ВЛИЯНИЕ ИЗАТИНА НА ПРОФИЛЬ ИЗАТИН-СВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ МОЗГА МЫШИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАРКИНСОНИЗМЕ

Бунеева О.А.¹, Копылов А.Т.¹, Згода В.Г.¹, Неробкова Л.Н.², Капица И.Г.², Иванова Е.А.², Медведев А.Е.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича РАМН, 119121 Москва, Погодинская ул., 10

² Федеральное государственное бюджетное учреждение Институт фармакологии им. В.В. Закусова РАМН 125315, г. Москва, Балтийская ул., 8

E-mail: olbun@yandex.ru

Изатин (2,3-диоксоиндол) – соединение, в концентрациях 0,1-1 мкМ содержащееся в органах и тканях млекопитающих и оказывающее разнообразные физиологические и фармакологические эффекты (Medvedev, Buneeva, Glover, 2007). Изатин рассматривают в качестве эндогенного агониста депренила – нейропротекторного препарата, применяемого для лечения болезни Паркинсона. Протеомное профилирование изатин-связывающих белков мозга мыши, выделенных с использованием аффинного сорбента, привело к идентификации 65 белков, причем взаимодействие ряда из этих белков с изатином было подтверждено методом биосенсорного анализа (Buneeva et al., 2010).

В настоящем исследовании моделирование экспериментального паркинсонизма осуществляли с помощью внутрибрюшинного введения нейротоксина МРТР (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина) мышам C57BL/6 в дозе 30 мг/кг, что вызывало развитие характерных двигательных нарушений: снижение локомоторной активности, тремор головы и передних конечностей, ригидность мышц.

Предварительное введение нейропротекторной дозы изатина (100 мг/кг) приводило не только к улучшению двигательной активности животных с экспериментальным паркинсонизмом, но и к изменению профиля изатин-связывающих белков мозга. Отмечено небольшое (17%) снижение количества идентифицированных белков, а также появление ряда белков, отсутствующих в контроле. При этом увеличивалось количество белков/ферментов, вовлеченных в процессы генерации энергии и углеводный обмен (с 7 до 12), но уменьшалось число белков/ферментов, участвующих в регуляции экспрессии генов, деления и дифференцировки клеток (с 26 до 12). Введение отечественного нейропротекторного препарата гимантана также способствовало улучшению двигательной активности животных, однако его эффект на профиль изатин-связывающих белков отличался от эффекта изатина.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты 09-04-00462-а и 12-04-00942-а).

**ВЫДЕЛЕНИЕ КОМПЛЕКСА БЕЛКОВ КРОВИ,
ОСУЩЕСТВЛЯЮЩЕГО СОПРЯЖЕННЫЙ ТРАНСПОРТ
ГОРМОНОВ В КРОВИ ЧЕЛОВЕКА**

Гарипова М.И., Усманова Р.Р., Гарипов О.С., Факиева С.А.

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
Башкирский государственный университет, 450076, г. Уфа, ул. Заки
Валиди, 32*

E-mail: margaritag@list.ru

На сорбенте с иммобилизованным инсулином, при физиологических значениях рН и концентрации цинка, из сыворотки крови человека выделены взаимодействующие с инсулином белки. Методом иммуноферментного анализа и иммунонефелометрии в их составе идентифицированы: альбумин ($26,7 \pm 1,75\%$), α - фетопротеин ($2 \pm 0,61\%$), трансферин ($10 \pm 0,73\%$), ретинол-связывающий белок ($4 \pm 0,75\%$) и иммуноглобулины класса G ($20,3 \pm 0,95\%$), вероятно, представляющие собой специфические антитела к инсулину. При гель-фильтрации выделенных белков на Сефадексе G-75 установлено, что при рН 7,2 и концентрации цинка 1 мкг/мл, они формируют надмолекулярный комплекс. Возможность существования такого комплекса подтверждается данными о сопряжении транспорта различных соединений белковыми комплексами, в состав которых входят гликопротеиды семейства липокалинов (ретинол-связывающий белок, трансферин), способные формировать межмолекулярные комплексы и обеспечивать доставку гормонов к клеткам-мишеням при помощи собственных клеточных рецепторов (Flower et al., 1996). Показано, что выделенный комплекс белков наряду с инсулином транспортирует также другие гидрофильные гормоны: иммунолюминесцентным методом в нем выявлены белковые гормоны: 1МЕ/мг лютеинизирующего гормона, 0,03 мкМЕ/мг тиреотропного гормона и 0,5 МЕ/мг пролактина. Кроме того, в составе комплекса выявлены гидрофобные гормоны: $11,0 \pm 0,5$ нмоль/мг тироксина, $1,3 \pm 0,06$ нмоль/мг трийодтиронина, $7,0 \pm 0,03$ нмоль/мг тестостерона. На основании полученных данных, высказано предположение о присутствии в крови человека общего для гидрофобных и гидрофильных гормонов транспортного комплекса. Установлено, что состав белков связывающего инсулин комплекса при инсулинзависимом сахарном диабете достоверно изменяется. Альбумин и α -фетопротеин, присутствующие в комплексе в норме, в пробах, выделенных из крови больных диабетом, выявляются лишь в следовых количествах и замещаются α_1 -кислым гликопротеином и, возможно, другими, не идентифицированными белками. Изменение состава белков транспортирующего гормоны комплекса при сахарном диабете первого типа, вероятно, является причиной снижения включения в комплекс инсулина. Возможно, по этой же причине при сахарном диабете первого типа нарушается доставка к клеткам-мишеням не только инсулина, но и других входящих в комплекс гормонов.

НОВАЯ БИОИНЖЕНЕРНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ПОИСКА И ИЗУЧЕНИЯ ПЕПТИДНЫХ БЛОКАТОРОВ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ Kv1.3 И Kv1.1

Некрасова О.В.¹, Кудряшова К.С.^{1,2}, Василевский А.А.¹,
Королькова Ю.В.¹, Кузьменков А.И.¹, Уткин Ю.Н.¹, Гришин Е.В.¹,
Феофанов А.В.^{1,2}, Кирпичников М.П.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

²Биологический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, 119234, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

E-mail: okatja@yandex.ru

Разработана технология флуоресцентной детекции лигандов калиевых каналов Kv1.1 и Kv1.3 (Kudryashova et al, 2013) на основе использования рекомбинантных гибридных белков KcsA-Kv1.1 и KcsA-Kv1.3. Связывание лигандов с гибридными каналами, локализованными в цитоплазматической мембране *E.coli*, осуществляется на поверхности сферопластов (бактерий без клеточной стенки). Регистрация лиганд-белковых взаимодействий производится с помощью лазерной сканирующей конфокальной микроскопии. Значения K_d различных лигандов (AgTx2, KTX, OSK1, TEA), измеренные с помощью биоинженерной тест-системы, согласуются с известными величинами K_d для каналов Kv1.1 и Kv1.3.

С применением тест-системы проведен анализ ядов трех видов скорпионов. В яде *Orthochirus scrobiculosus* установлено присутствие только одного и уже известного блокатора Kv1.3 - пептида OSK1. В яде *Heterometrus laoticus* обнаружен новый блокатор Kv1.3 – хетлаксин (М.в. 3669,2 Да, 8 остатков Cys, $K_d=59$ нМ) (Х.Н.Ань и др. 2013, в печати). В яде *Methobutus eurus* помимо известных блокаторов (MeuKTX, ВеKm-1, MeuTx3B, MeuТХК- α 1 и - β 1) найдены, по крайней мере, 4 новых активных пептида, связывающихся с KcsA-Kv1.1 и KcsA-Kv1.3. Проводится определение их первичной структуры. Тест-система позволяет эффективно отслеживать фракции с целевой активностью на всех стадиях разделения ядов, выполнять анализ на микро-количествах биологического материала, характеризовать аффинность и селективность связывания индивидуальных пептидов. Применение биоинженерной тест-системы сокращает объем исследований и ускоряет поиск высокоаффинных лигандов Kv1.1 и Kv1.3 в составе многокомпонентных смесей, таких как природные яды.

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований Президиума РАН № 24 «Фундаментальные основы технологий наноструктур и наноматериалов».

САЛИЦИЛАТ- И ЖАСМОНАТ ИНДУЦИРОВАННОЕ ИЗМЕНЕНИЕ СПЕКТРА ЗАЩИТНЫХ БЕЛКОВ В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ СЕПТОРИОЗЕ

Яруллина Л.Г., Бурханова Г.Ф., Заикина Е.А., Ахатова А.Р., Касимова Р.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, 450054, г. Уфа, пр. Октября, 71

E-mail: yarullina@bk.ru

Важная роль во взаимоотношениях растений и патогенов принадлежит активным формам кислорода (АФК), в том числе перекиси водорода. Так, под воздействием H_2O_2 имеет место активация экспрессии генов патоген-индуцируемых защитных белков при реализации локального и системного иммунитета (Гарчевский, 2001; Orozco-Cardenas et al., 2009). Сигнальными молекулами для индуцированной генерации АФК в растительных тканях являются салициловая (СК) и жасмоновая (ЖК) кислоты. Инокуляцию проростков пшеницы гембиотрофным грибом - возбудителем септориоза *Septoria nodorum* Berk. проводили путем опрыскивания листьев суспензией спор (10^6 спор/мл). Развитие болезни оценивали по шкале, разработанной во Всероссийском НИИ фитопатологии. СК и ЖК использовали для предпосевной обработки семян (замачивание, 3 ч). Для определения значений изоэлектрических точек и молекулярной массы белков использовали метод двумерного денатурирующего электрофореза в полиакриламидном геле. Изоэлектрофокусирование белков проводили на приборе Protean IEF (Biorad, США). Для разделения белков по изоэлектрической точке использовали готовые 7-сантиметровые стрипы (Biorad, США), диапазон pH 3-10. Для разделения белков по молекулярной массе проводили SDS-электрофорез в 10%-ном ПААГ по Лэммли. Инфицирование пшеницы возбудителем септориоза *S. nodorum* повышало транскрипционную активность генов анионной пероксидазы и оксалатоксидазы. Аналогичный эффект вызывала и обработка пшеницы индукторами устойчивости. СК, в отличие от ЖК, оказывала более значительный индуцирующий эффект на экспрессию гена анионной пероксидазы как в контрольных, так и в инфицированных листьях. Результаты двумерного электрофореза защитных белков при инфицировании пшеницы *S. nodorum* показали повышение содержания белка № 20 (м.м. 18 кД/рI 5.4) в 2,2 раза; белка № 31 (21/7.8) - в 3.5 раза. Обработка растений СК усиливала синтез белка № 11 (28/6.5). Под воздействием ЖК на электрофореграмме появились синтезированные *de novo* молекулы белков № 30 (46/5.8), № 40 (43/5.4). Выявленное воздействие СК и ЖК на активность и спектр защитных белков может обуславливать повышение устойчивости растений пшеницы к возбудителю септориоза.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ_поволжье_а №11-04-97037.

СЕКЦИЯ 2

Методы синтеза, химическая модификация.
Белковая инженерия

ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ ИНСУЛИНА ЧЕЛОВЕКА

Нокель Е.А., Гордеева Е.А., Мелихова Т.Д., Зиганшин Р.Х.,
Красильщикова М.С., Шибанова Е.Д., Зинченко А.А.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова Российской академии наук 117997, Москва, ул. Миклухо-
Маклая 16/10*

E-mail: alezina@mail.ru

Химическая модификация пептидов и белков терапевтического назначения является одним из важнейших инструментов создания инновационных биофармацевтических препаратов, поэтому поиск новых соединений, обладающих улучшенными физиологическими свойствами, продолжается все нарастающими темпами. Наибольшие успехи этого направления связаны с созданием новых противодиабетических препаратов на основе инсулина человека и инкретинов. В результате генно-инженерной и химической модификации эти соединения приобретают новые физико-химические и физиологические свойства, обеспечивающие положительные изменения их фармакокинетического и фармакодинамического поведения.

Цель настоящего исследования – разработка методов модификации первичных аминокрупп инсулина человека для получения N-ацилированных производных с заместителями различной структуры и разной степенью замещения. Объекты ацилирования – инсулин человека, его генно-инженерные аналоги: инсулины аспарт и лизпро, N^{εB29}-цитраконоилинсулин и проинсулин человека. В качестве ацилирующих агентов использовали активированные сукцинимидные эфиры α-липоевой кислоты, N-ацетил-глюкозаминил-β-(1→4)-ацетилмурамовой кислоты (дисахарид), ряда жирных кислот и др. Контроль результатов синтеза и хроматографической очистки продуктов реакции с использованием ионообменной и гидрофобной хроматографии, а также анализ чистоты конечных продуктов осуществляли с помощью ОФ ВЭЖХ; структуру синтезированных соединений доказывали пептидным картированием с использованием протеиназы из *S. aureus* V8, титрованием аминокрупп и масс-спектрометрическим анализом.

В результате проведенных исследований разработаны способы получения три-N-замещенных производных инсулина с одинаковыми и разными лигандами. Разработаны методы синтеза комбинированных углеводсодержащих лигандов, включающих низкомолекулярные соединения различной химической природы, и способы селективного ацилирования инсулина полученными производными. Исследована стабильность полученных соединений в условиях протеолиза и биологическая активность N-ацилированных производных инсулина и его генно-инженерных аналогов.

ГИБРИДНЫЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ БЕЛКИ НА ОСНОВЕ TNF И $^{10}\text{Fn3}$: ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА

Петровская Л.Е.¹, Шингарова Л.Н.¹, Крюкова Е.А.¹, Болдырева Е.Ф.¹, Гапизов С.Ш.^{1,2}, Лукашев Е.П.², Литвинов И.С.¹, Долгих Д.А.^{1,2}, Кирпичников М.П.^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва 117997, ул. Миклухо-Маклая 16/10

²Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова, Биологический факультет, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

E-mail: kelen@fromru.com

С целью разработки новых подходов и реагентов для диагностики и визуализации мы поставили задачу конструирования гибридных флуоресцентных белков (ФБ), включающих 10 домен фибронектина ($^{10}\text{Fn3}$) и фактор некроза опухолей человека (TNF), и их продукции в бактериальной системе экспрессии. $^{10}\text{Fn3}$ широко используется в качестве альтернативного каркасного белка, обладает высокой стабильностью и хорошей растворимостью. На его основе могут быть получены искусственные белки, обеспечивающие связывание и визуализацию целевых молекул. Локализация рецепторов TNF на клетках является актуальной биомедицинской задачей, поскольку этот провоспалительный цитокин является медиатором различных патологических состояний в организме человека. В качестве ФБ был выбран красный флуоресцентный белок mCherry, который представляет собой мономерный белок с максимумом флуоресценции 610 нм, высокой яркостью и фотостабильностью. Отсутствие способности к димеризации также является преимуществом mCherry, поскольку небольшой размер гибрида способствует лучшему проникновению в ткани.

Нами сконструированы гибридные гены, кодирующие mCherry и $^{10}\text{Fn3}$, а также mCherry и TNF, оптимизирована их экспрессия в клетках *E. coli*. Установлено, что продукты экспрессии частично локализованы в растворимой фракции клеток, откуда могут быть выделены при помощи металлоаффинной хроматографии в нативных условиях. Анализ с помощью гель-фильтрации показал, что рекомбинантный белок mCherry- $^{10}\text{Fn3}$ является мономером, а mCherry-TNF имеет тримерную структуру, характерную для TNF. Показано, что спектры флуоресценции гибридных ФБ совпадают со спектрами mCherry. Результаты работы могут быть использованы для создания инструментов, обеспечивающих визуализацию различных белковых мишеней.

Работа проводится при финансовой поддержке гранта НШ-5597.2012.4 и программы РАН «Молекулярная и клеточная биология».

**КОНФОРМАЦИОННЫЙ АНТИГЕН, МОДЕЛИРУЮЩИЙ
ВНЕКЛЕТОЧНУЮ ЧАСТЬ МУСКАРИНОВОГО M2-РЕЦЕПТОРА, И
ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С СЫВОРОТКАМИ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ
С ИДИОПАТИЧЕСКИМИ АРИТМИЯМИ**

Палькеева М.Е., Сидорова М.В., Молокоедов А.С., Азьмуко А.А.,
Беспалова Ж.Д., Шарф Т.В., Мамочкина Е.Н., Ефремов Е.Е.

*ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс»
Минздрава РФ, 121552, г. Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15А*

E-mail: peptide1@cardio.ru

Твердофазным методом с использованием Fmoc-технологии синтезированы пептидные фрагменты: YTVIGYWPLGPPVCDL(83-98) из 1-й внеклеточной петли и VEDGECYIQFFS (171-182) из 2-й внеклеточной петли белка мускаринового M2-рецептора, антитела к которому могут быть маркерами ранних проявлений тяжелых сердечно-сосудистых заболеваний. Методом направленного замыкания дисульфидной связи между синтезированными пептидами получен и охарактеризован новый конформационный антиген с природной локализацией S-S мостика. Проведен сравнительный анализ реактивности синтезированных соединений с сыворотками крови больных идиопатическими аритмиями, не имеющих органических заболеваний сердца. Использовался унифицированный непрямой метод ИФА на образцах крови клинически охарактеризованных пациентов в одинаковых для каждого пептида условиях. Также была протестирована механическая смесь пептидов, входящих в конформационный антиген.

Проведенный эксперимент подтвердил, что новый конформационный антиген более эффективно выявляет аутоантитела в сыворотках крови больных с идиопатической аритмией, чем каждый из составляющих его пептидов, а также их смесь. Таким образом, новый конформационный антиген позволяет более эффективно обнаруживать аутоантитела в сыворотках/плазме больных и может быть использован для ранней диагностики сердечно-сосудистых заболеваний.

Данная работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки (государственный контракт № 16.512.11.2176).

КОНТРОЛИРУЕМОЕ ВВЕДЕНИЕ АЗИДОГРУПП В МОЛЕКУЛУ БЕЛКА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ КОНЬЮГАТОВ С БИМОЛЕКУЛАМИ С ПОМОЩЬЮ РЕАКЦИИ 1,3-ДИПОЛЯРНОГО ЦИКЛОПРИСОЕДИНЕНИЯ

Прохоренко И.А.¹, Апарин И.О.¹, Михалёва М.А.^{1,2}, Энгель С.Р.³,
Коршун В.А.¹, Устинов А.В.^{1,3}

¹ *Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117995, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

² *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119992, г. Москва, Ленинские Горы, 1*

³ *Биотех-Индустрия 119992, г. Москва, Ленинские Горы, 1, стр. 75*

E-mail: igopr67@gmail.com

Для получения конъюгатов белков с нуклеиновыми кислотами с контролируемой степенью модификации использовали протекающую в водной среде биоортогональную реакцию взаимодействия алифатических азидогрупп, введённых в молекулу белка с терминальным алкином (в присутствии Cu(I)-катализатора) или с циклооктином (напряжённым циклическим ацетиленом), присоединённым к олигонуклеотиду. В результате циклоприсоединения образующийся 1,2,3-триазольный фрагмент давал стабильные ковалентные конъюгаты.

Были получены бифункциональные реагенты, содержащие активированную карбоксильную группу, алифатическую азидогруппу и остаток красителя в линкере между ними. После модификации белка таким реагентом и обессоливания получали азидо-модифицированный продукт, число азидогрупп в котором определяется спектрофотометрически, по поглощению красителя (сульфированного производного цианина Су3 или Су5). С помощью таких реагентов получены антитела (иммуноглобулины), содержащие от одной до полутора азидогрупп на молекулу, которые затем были использованы для синтеза конъюгатов антител с олигонуклеотидами в составе 1:1; последние представляют собой ключевой инструмент в высокочувствительном методе детекции антигена – иммуно-ПЦР.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и гранта РФФИ 13-04-01317.

НЕОЖИДАННОЕ ОБРАЗОВАНИЕ ДИСУЛЬФИДНОГО ДИМЕРА ПРИ ОБРАБОТКЕ ПЕПТИДИЛПОЛИМЕРА ТРИФТОРУКСУСНОЙ КИСЛОТОЙ

Сидорова М.В., Молокоедов А.С., Фрид Д.А., Бурячковская Л.И., Беспалова Ж.Д.

ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава РФ, 121552, Москва, 3-я Черепковская ул., 15а.

E-mail: peptide1@cardio.ru

При твердофазном синтезе (ТФС) антагониста тромбинового рецептора-1 (аПАР-1) $\text{SH}(\text{CH}_2)_2\text{CO-Phe-Cha-Cha-Arg-Lys-Pro-Asn-Asp-Lys-NH}_2$ и его оригинального аналога $\text{SH}(\text{CH}_2)_2\text{CO-Phe-Ile-Ile-Arg-Lys-Pro-Asn-Asp-Lys-NH}_2$ мы столкнулись с неожиданной побочной реакцией в процессе заключительного деблокирования и отщепления пептида от полимерного носителя. При действии на соответствующий пептидилполимер трифторуксусной кислоты с добавкой скэвенджеров (например, известного реагента К или смеси TFA/TIS/ H_2O) в сыром продукте ТФС в тех или иных количествах (от 8 до 30% по данным ВЭЖХ) наряду с целевым пептидом присутствовал его дисульфидный димер. Целевой и побочный продукты были выделены хроматографическими методами и охарактеризованы (ВЭЖХ, MALDI-MS). Изучена устойчивость мономерной формы пептида при различных значениях pH; обсуждаются способы минимизации побочной реакции в условиях ТФС.

Проведена проверка действия аналога (аПАР-1) $\text{SH}(\text{CH}_2)_2\text{CO-Phe-Ile-Ile-Arg-Lys-Pro-Asn-Asp-Lys-NH}_2$ и его дисульфидного димера на агрегацию тромбоцитов у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца. Показано, что пептид $\text{SH}(\text{CH}_2)_2\text{CO-Phe-Ile-Ile-Arg-Lys-Pro-Asn-Asp-Lys-NH}_2$ проявляет своё максимальное ингибирующее действие на агрегацию тромбоцитов в низких концентрациях (10 нМ), в то время как его димерная форма наиболее эффективна при высоких концентрациях (10 мкМ). Этот эффект проявляется как в отношении спонтанной, так и в случае индуцированной агрегации тромбоцитов.

ДЕНДРИМЕРНЫЕ И МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ПЕПТИДЫ

Скляр Л.Ю., Назимов И.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая 16/10

E-mail: lsklyarov@yandex.

Продукты реакции диенофилов с пептидами использованы как в препаративных целях - синтез гетероциклов, дендримеров, так в аналитических целях – в сиквенсе пептидов. В темплатном синтезе тетрапиридотетраазопорфиринов и их дендримеров использованы 3-амино-, 3-гидроксипиридины и 6-пептидилпиридины, получаемые из ацилированных аминокислот и пептидов. Рассматриваются несколько возможностей образования межпорфириновых связей (ацилирование нитрильными группами, аминирование мочевиной и окислительные процессы). Предполагается использовать производные порфиринов для фотодинамической терапии, специфических катализаторов окисления и сорбентов. Продукты реакции конденсации пептидов с диенофилами, обладающие интенсивным поглощением и флуоресценцией, могут быть использованы и в аналитических целях, учитывая модификацию и специфическое расщепление пептидных связей. Реакция конденсации проводится в присутствии ангидридов и хлорангидридов кислот, образующиеся при этом производные оксазолов подвергаются ацилированию и декарбоксилированию. Ацидолиз приводит к фрагментации пептидной цепи. Последующий сравнительный аминокислотный анализ продуктов реакции или масс-спектрометрия образующихся фрагментов позволяет установить исходную последовательность аминокислот пептида. Для пептидомики разработан вариант секвенирования с разделением продуктов ацидолиза пептидов в геле и масс-спектрометрированием пептида, сорбированного в геле (V.Zaikin, J.Halket, 2009). Процесс секвенирования облегчается модификацией N-концевых аминокислот, в том числе, и реакцией диазотирования пептидов. Превращение диазогруппы в гидроксид- и оксигруппы облегчает и фрагментацию пептида, и отнесение фрагментов к N- концевой последовательности пептидов и предотвращает нежелательный процесс образования дикетопиперазинов.

ЭКЗОНОВОЕ КОНСТРУИРОВАНИЕ κДНК, ЭКСПРЕССИЯ И ВЫДЕЛЕНИЕ ДВУХ ИЗОФОРМ РЕНАЛАЗ ЧЕЛОВЕКА

Федченко В.И.¹, Калошин А.А.¹, Межевикина Л.М.², Бунеева О.А.¹,
Медведев А.Е.¹

¹ *Федеральное государственное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича Российской академии медицинских наук, 119121 Москва, Погодинская ул., д.10, стр.8;*

² *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биофизики клетки Российской академии наук, 142290, г. Пущино, Институтская ул., д.3*

E-mail: valfed@ibmc.msk.ru

Реналаза – недавно открытый секреторный белок, участвующий в регуляции артериального давления у человека и животных. По данным GenBank, ген реналазы человека, локализованный на 10 хромосоме (локус q23.33), кодирует 2 изоформы, реналазу-1 и реналазу-2. Все имеющиеся в научной литературе данные получены для реналазы-1, которую несколько исследовательских групп экспрессировали в про- и эукариотических клетках, выделили этот рекомбинантный белок, получили его в кристаллическом виде, а также использовали для получения поли- и моноклональных антител и последующего изучения уровня его экспрессии в клетках человека и содержания в биологических жидкостях у различных групп больных. Существование реналазы-2 до сих пор остается под вопросом, хотя транскрипт, соответствующий мРНК этой изоформы, был найден Xu et al. в мышечных клетках человека еще в 2005 г.

Используя собственный метод последовательного объединения экзонов (Федченко и др., 2011), в настоящей работе мы получили полную кодирующую последовательность реналазы-1 и реналазы-2 человека и осуществили экспрессию этих рекомбинантных белков в клетках *E. coli*. Поликлональные антиреналазные антитела барана, полученные к очищенной реналазе-1, выявляли этот белок в моче человека (Федченко и др., 2012) и, по данным Вестерн-блот анализа, взаимодействовали не только с реналазой-1, но и с реналазой-2. Последнее позволяет предположить, что некоторые функции, а также особенности экспрессионного профиля реналазы-1, обосновываемые данными иммуноферментного анализа с использованием антиреналазных антител, могут быть «делегированы» реналазе-2.

Данная работа поддержана бюджетом РАМН и грантом РФФИ №11-04-01181а.

СЕКЦИЯ 3

Физико-химические и расчетные
методы исследования.

Пространственная структура

УКЛАДКА SH3-ПОДОБНЫХ ДОМЕНОВ КАК КОМБИНАЦИЯ СТРУКТУРНЫХ МОТИВОВ

Бражников Е.В., Ефимов А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка Российской академии наук, 142290, Московская область, г. Пущино, ул. Институтская, 4

e-mail: tefg@vega.protres.ru

Сворачивание полипептидной цепи белков в пространственную структуру может происходить как по «зародышевому» механизму, когда зародышем является определенный структурный мотив, так и по «блочному» механизму. Готовыми блоками при сворачивании белков могут быть структурные мотивы с уникальной укладкой полипептидной цепи, объединение которых в различных комбинациях приводит к образованию укладок цепи более высокого порядка. SH3-подобный домен довольно часто встречается как в гомологичных, так и негомологичных белках. Он представляет собой компактную структуру, которая состоит из пяти-шести бета-тяжей и содержит в среднем около 60 аминокислотных остатков. В настоящей работе изучены более 100 SH3-доменов, около 50 негомологичных SH3-подобных доменов с прямым ходом цепи и 9 негомологичных SH3-подобных доменов с обратным ходом цепи. Анализ показал, что все гомологичные и негомологичные SH3-подобные домены можно представить в виде комбинации двух правых скрученных бета-шпилек (Бражников, Ефимов, 2011), которые замыкаются концевым бета-тяжем. Домены с обратным ходом цепи встречаются существенно реже вследствие того, что в их структуре должна присутствовать левая скрученная бета-шпилька, которая энергетически невыгодна (Efimov, 1991). Полученные данные могут быть использованы для предсказания SH3-подобных доменов в белках с неизвестной структурой и при моделировании структуры белков, содержащих эти домены.

Работа поддержана грантом РФФИ: № 13-04-00150.

**БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ КОНФОРМАЦИЯ ГБ-115,
ДИПЕПТИДНОГО АНАЛОГА ХОЛЕЦИСТОКИНИНА-4**

Деева О.А., Колик Л.Г., Гудашева Т.А., Середенин С.Б.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии им. В. В. Закусова» РАМН, 125315, г. Москва, Балтийская ул., д.8

E-mail: olga.angstrem@gmail.com

В НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН на основе структуры природного анксиогенного тетрапептида холецистокинина-4 (Trp-Met-Asp-Phe-NH₂) с использованием топохимического принципа Шемякина-Овчинникова-Иванова сконструирован его ретродицептидный аналог амид *N*-(6-фенилгексаноил)глицил-триптофана (ГБ-115). Этот дипептид на животных моделях проявляет анксиолитическую активность в дозах 0.0025-0.25 мг/кг внутривнутрибрюшинно и 0.1-0.8 мг/кг перорально, свободен от побочных эффектов, характерных для транквилизаторов бензодиазепинового ряда, и практически нетоксичен (LD₅₀ > 6 г/кг для крыс, перорально). ГБ-115 может стать родоначальником новой группы анксиолитиков с холецистокининовым механизмом действия.

В данной работе с использованием конформационного анализа методом ¹H-ЯМР-спектроскопии в растворе и метода пространственно ограниченных аналогов исследована биологически активная конформация ГБ-115. Изучение связи предпочтительной конформации в растворе и анксиолитической активности в ряду производных ГБ-115 показало, что биологически активной конформацией этого соединения является бета-изгиб. Данные ¹H-ЯМР спектроскопии по ядерному эффекту Оверхаузера позволили предположить, что это β-изгиб типа II. Последующий синтез и изучение фармакологической активности новых пространственно ограниченных аналогов дипептида ГБ-115: этилового эфира (2*S*)-2-[(3*R*)-3-[(6-фенилгексаноил)амино]-2-оксопирролидин-1-ил]-3-(1*H*-индол-3-ил)пропионовой кислоты, этилового эфира *N*-(6-фенилгексаноил)глицил-*N*^α-метил-триптофана, метилового эфира (2*S*)-2-[(10,11-дигидро-5*H*-добензо[*b,f*]азепин-5-илкарбонил)амино]-3-(1*H*-индол-3-ил)пропионовой кислоты и метилового эфира (2*S*)-2-[(3-[(этоксикарбонил)амино]-10,11-дигидро-5*H*-добензо[*b,f*]азепин-5-ил}карбонил)амино]-3-(1*H*-индол-3-ил)пропионовой кислоты подтвердили природу активной конформации ГБ-115 как β-изгиба II-типа.

ВЫСОКОВАРИАБЕЛЬНЫЕ САЙТЫ И УЧАСТКИ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ БЕТА-ЦЕПЕЙ ГЕМОГЛОБИНОВ ЧЕЛОВЕКА И ДРУГИХ ПРИМАТОВ

Костецкий П.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

E-mail: pvkost1940@ibch.ru

Сравнивали выровненные аминокислотные (АК) последовательности бета-цепей гемоглобинов (НВВ) 24-х представителей отряда приматов (18 *Haplorrhini* и 6 *Strepsirrhini*). Нашли, что вся группа НВВ-последовательностей длиной 147 АК-позиций имеет 45 вариабельных сайтов (индекс вариабельности 31%), тогда как при обычном парном сравнении число АК-замен не более 32 (22%). При этом 17 высоковариабельных сайтов содержат две или более АК-замен, а другие 28 сайтов имеют по одной АК-замене. Вариабельные сайты АК-последовательностей идентифицировали графически стандартным методом (Garcia-Boronat, Diez-Rivero et al., 2008 и Naylor, Gerstein, 2000).

Часть вариабельных сайтов (26 из 45) расположена в трех участках общей длиной 35 АК-позиций (1-14, 51-59, 121-132). Это отвечает среднему значению индекса вариабельности 74%, а для всей длины НВВ-последовательностей оценка значительно ниже (31%). На множестве искусственных гомологичных АК-последовательностей показали, что наличие высоковариабельных участков не случайно. Например, вероятность случайного совместного появления двух участков со средним значением индекса вариабельности 77% сегментов 1-14, 121-132 ниже 1 %.

Большинство из 17 высоковариабельных сайтов расположено на поверхности молекул НВВ, что подтверждается оценкой среднего расстояния атомов боковых цепей соответствующих 15 АК-остатков (без Gly) молекул НВВ человека (18,7 Å из кристаллографических данных) от центра молекулы. Эта характеристика для всех 92 инвариантных АК-позиций составляет 13,8 Å, что свидетельствует о расположении значительной части соответствующих АК-остатков внутри белковой молекулы.

Данные, получаемые анализом “информации, вносимой мутациями” (Marx, Colwell et al., 2011), и содержащиеся в гомологичных АК-последовательностях, полезны для предсказания трехмерной укладки белковых молекул и предсказания пептидов, специфичных для одного из сравниваемых таксонов.

ИЗУЧЕНИЕ СЫВОРОТОЧНЫХ АЛЬБУМИНОВ РАЗЛИЧНЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ ПОЗВОНОЧНЫХ С ПОМОЩЬЮ СПЕКТРАЛЬНО-ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ ЗОНДОВ

Панова И.Г.¹, Татиколов А.С.²

¹ *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334 Москва,
ул. Вавилова, 26*

² *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 117334 Москва,
ул. Косыгина, 4*

E-mail: pinag@mail.ru

Для исследования сывороточных альбуминов нами были разработаны спектрально-флуоресцентные зонды ДЭЦ (полиметиновый краситель пиридиниевая соль 3,3'-ди-(γ-сульфопропил)-4,5,4',5'-добензо-9-этилтиакарбоцианин-бетаина) и СКК (скварилиевый краситель с сульфогруппами – производный 3Н-индолия). Характерным свойством зонда ДЭЦ является способность специфически распознавать молекулы сывороточного альбумина человека. Образование комплекса красителя с альбумином вызывает появление длинноволновой полосы поглощения (~612 нм) и резкий рост флуоресценции. Этот зонд оказался эффективным для исследования жидких сред организма человека, например, сыворотки крови и жидких сред глаза, таких как стекловидное тело и жидкость передней камеры. В настоящей работе с применением красителя ДЭЦ было проведено исследование сывороточных альбуминов различных позвоночных животных и человека. Показано, что краситель ДЭЦ специфически взаимодействует с сывороточным альбумином человека. С альбуминами других представителей позвоночных животных взаимодействие красителя ДЭЦ слабее, и при этом не проявляется полоса поглощения связанной формы, характерной для альбумина человека. В то время как в молекуле альбумина человека краситель ДЭЦ выявляет только один центр связывания, в альбуминах позвоночных животных выявляются по меньшей мере два центра связывания. Для исследования сывороточного альбумина у различных представителей позвоночных пригоден зонд СКК, который в равной степени (достаточно эффективно) взаимодействует со всеми исследованными альбуминами. Таким образом, данные зонды могут быть успешно использованы как для диагностических, так и для научно-исследовательских целей.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 11-04-00728а, 13-03-00863а) и программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа»: современное состояние и проблемы развития», подпрограмма «Динамика и сохранение генофонда».

**НОВЫЙ КОНФОРМАЦИОННЫЙ ПЕПТИДНЫЙ АНТИГЕН,
МОДЕЛИРУЮЩИЙ ИММУНОДОМИНАНТНЫЙ ЭПИТОП 2-Й
ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ПЕТЛИ β_1 -АДРЕНОРЕЦЕПТОРА.
КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ, СИНТЕЗ, ИЗУЧЕНИЕ
ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ**

Бибилашвили Р.Ш.¹, Сидорова М.В.¹, Молокоедов А.С.¹, Беспалова Ж.Д.¹,
Бочаров Э.В.^{2,3}, Бозин Т.Н.³, Ефремов Е.Е.¹, Шарф Т.В.¹

¹ ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс»
Минздрава РФ, 121552, Москва, 3-я Черепковская ул., 15а.

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова, 117997, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10

³ НБИКС-Центр НИЦ «Курчатовский институт», 123182, Россия, Москва,
пл. Академика Курчатова, д. 1

E-mail: peptide1@cardio.ru

В последнее время активно изучается роль аутоиммунных механизмов в патогенезе «идиопатических» аритмий. Показано, что аутоантитела IgG-класса против собственных антигенов организма (таких как β_1 -адренорецептор и др.) могут способствовать развитию нарушений ритма и проводимости у пациентов без органической патологии сердца.

С помощью методов компьютерного моделирования построена пространственная структура конформационного пептидного антигена, имитирующего иммунодоминантный эпитоп 2-й внеклеточной петли β_1 -адренорецептора. Твердофазным методом с использованием Fmoc-технологии синтезирован соответствующий линейный предшественник - 25-членный пептид. Путем направленного замыкания S-S-мостиков получен бициклический полипептид, соответствующий предложенной структуре конформационного антигена. С помощью спектроскопии ЯМР высокого разрешения изучена пространственная структура этой молекулы. При этом показано, что структура бициклического полипептида близка к структуре построенной компьютерной модели. Конформационный антиген оказался пригодным для выявления аутоантител в сыворотках крови больных с нарушениями ритма и проводимости без признаков органического заболевания сердечно-сосудистой системы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного контракта № 16.512.11.2176 «Исследование возможностей применения белков, моделирующих β_1 -адренорецепторы и некоторые структуры кардиомиоцита, на основе изучения их структурно-функциональных свойств для диагностики иммунореактивности и оценки эффективности иммунокоррекции у больных с нарушениями ритма и проводимости сердца без признаков органического заболевания сердечно-сосудистой системы».

МИЦЕЛЛООБРАЗОВАНИЕ И ВТОРИЧНАЯ СТРУКТУРА БЕТА-КАЗЕИНА

Файзуллин Д.А.¹, Коннова Т.А.¹, Эртле Т.², Зуев Ю.Ф.¹

¹ *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, 420111, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31.*

² *l'Institut National de la Recherche Agronomique, France*

E-mail: dfaizullin@mail.ru

Молекула бета-казеина – одного из основных белков молока, представляет собой полипептид с заряженным полярным N-концевым участком и практически нейтральной гидрофобной C-областью, вследствие чего она имеет ярко выраженные дифильные свойства. Полипептидная цепь белка содержит значительное число неструктурированных участков, что придает молекуле бета-казеина гибкость в сочетании с высокой доступностью пептидных и боковых групп растворителю. В водном растворе бета-казеин проявляет свойства поверхностно-активного вещества и демонстрирует сильную тенденцию к самоассоциации, образуя сфероидальные мицеллы, размер которых постоянен в широком интервале температур и концентраций белка. Согласно реоморфной гипотезе (Holt, Sawyer 1993), при взаимодействии молекул казеина может происходить определенная регуляризация его вторичной структуры, имеющая функциональное значение.

На основе сопоставления результатов, полученных разными оптическими методами - динамического светорассеяния, кругового дихроизма и ИК-спектроскопии, мы попытались выяснить, может ли тепловая или изотермическая мицеллизация бета-казеина приводить к образованию новых элементов вторичной структуры. Нами установлено, что мицеллизация, индуцируемая увеличением концентрации белка при постоянной температуре, сопровождается образованием внутримолекулярной бета-структуры. В процессе нагрева при постоянной концентрации возрастает доля неупорядоченной конформации и бета-поворотов. В обоих случаях новая структура возникает за счет распада участков полипролиновой спирали РРІ, которая, таким образом, представляет собой наиболее лабильную конформацию, способную трансформироваться в структуры иных типов в ответ на внешние воздействия.

**КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ
РАСТИТЕЛЬНЫХ ДЕФЕНЗИНОВ С ФОСФОЛИПИДНОЙ
МЕМБРАНОЙ**

Хайрутдинов Б.И., Ермакова Е.А., Зуев Ю.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, 420111, Казань, ул. Лобачевского 2/31, а/я 30

E-mail: khayrutdinov@yahoo.com

Растительные дефензины – катионные пептиды, обладающие бактериальной, фунгицидной и инсектицидной активностью. Несмотря на большой интерес к структуре и функциям дефензинов, молекулярные механизмы их защитного действия практически не известны. Предполагается, что одним из этапов действия многих дефензинов является распознавание и взаимодействие с клеточной стенкой патогена. Для молекул дефензинов характерно высокое содержание положительно заряженных аминокислот (аргинина, лизина, гистидина), что обеспечивает им положительный заряд. Гидрофильные и гидрофобные участки молекулы дефензина четко отделены друг от друга. Это свойство облегчает их связывание с мембранами патогенов.

В работе методом молекулярного докинга (AutoDock4.2.) исследовалось взаимодействие с фосфолипидной мембраной 6 дефензинов растительного происхождения, которые различаются между собой источником (происхождением), зарядом (от +1 до +6), распределением заряженных остатков по поверхности белка (коды в Protein Data Bank: 1JKZ.pdb, 2KSK.pdb, 1TI5.pdb, 3PSM.pdb, 1N4N.pdb). Структура шестого дефензина была получена на основе структуры белка 1JKZ.pdb, путем замены аминокислотных остатков согласно первичной последовательности (Thevissen K. et al., 2003) и оптимизирована с помощью программы HyperChem и силовых полей типа CHARMM. Аминокислотные последовательности исследуемых дефензинов характеризуются слабой гомологией, однако вторичная структура и третичная структуры достаточно близки. Были получены структуры нескольких типов комплексов для рассматриваемых дефензинов с двумя типами мембран: одна сконструирована на основе фосфатидилхолина, вторая – фосфатидилэтаноламина. Проанализированы структуры полученных комплексов, энергии взаимодействия и кластеризации. Сравнительный анализ взаимодействия дефензинов с мембраной показал, что они слабо взаимодействуют с мембранной поверхностью. Основной вклад в энергию взаимодействия дают электростатические силы, а также сольватационный и гидрофобный эффекты. Специфичность взаимодействия проявляется в различной ориентации белка относительно поверхности мембраны.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №12-04-01286-а.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕАКЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ L-ЦИСТЕИНА И L-МЕТИОНИНА В СВЯЗИ С ОБРАЗОВАНИЕМ СЕЛЕНСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ В ГРИБНОЙ КУЛЬТУРЕПанкратов А.Н.¹, Цивилева О.М.², Цымбал О.А.¹

¹Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83. E-mail: PankratovAN@info.sgu.ru

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, 410049, г. Саратов, просп. Энтузиастов, 13

E-mail: tsivileva@ibppm.sgu.ru

В живых организмах селен обнаружен в составе нескольких индивидуальных соединений, но одной из основных форм существования органического селена в растительных и грибных тканях является селенометионин (SeMet). Культура пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* способна ассимилировать до 3 мг/г биомассы Se, при этом более 90% общего Se находится в форме SeMet, а селеноцистеина - лишь 0.5%. Та же картина наблюдается у высших съедобных грибов - культивируемых базидиомицетов, в том числе, обладающего высокими потребительскими качествами и служащего основой создания эффективных лекарственных препаратов *Lentinula edodes* (шиитаке). В культуре шиитаке, выращенной на обогащенном селенитом натрия субстрате, основное соединение - SeMet, связанный с белком. Таким образом, налицо явное "предпочтение" грибными культурами разных систематических групп селена в виде SeMet. Усвоение селена сопровождается замещением атома серы на селен в L-метионине. Методом теории функционала плотности (DFT) с использованием гибридного функционала B3LYP, сочетающего трехпараметровый обменный функционал Бекке и корреляционный функционал Ли - Янга - Парра (LYP), с базисным набором 6-311++G(3df,3pd), с привлечением анализа натуральных связей орбиталей (NBO-анализ) и квантовой теории "атомы в молекулах" (AIM) Бейдера, нами проведено сравнительное квантовохимическое исследование электронной структуры молекул и реакционной способности двух серусодержащих эссенциальных аминокислот - L-цистеина и L-метионина на начальном этапе взаимодействия с электрофильными реагентами. Для важнейших внутримолекулярных донорно-акцепторных взаимодействий проанализирована энергия возмущения второго порядка. Изучены характеристики критических точек связей. Обсуждены некоторые QSAR-свойства L-цистеина и L-метионина. Выявлены теоретические предпосылки (электронное строение, дипольный момент, размер, поляризуемость молекул, липофильность) замещения атома серы на селен именно в молекуле L-метионина.

ОПТИМИЗАЦИЯ КОНСТРУИРОВАНИЯ И ОТБОРА КОМБИНАТОРНЫХ БИБЛИОТЕК НА ОСНОВЕ ДОМЕНА ФИБРОНЕКТИНА

Шингарова Л.Н., Петровская Л.Е., Крюкова Е.А., Болдырева Е.Ф., Долгих Д.А., Кирпичников М.П.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва 117997, ул. Миклухо-Маклая 16/10

E-mail: lshing@mx.ibch.ru

Домен фибронектина (10 домен фибронектина III типа, Fn3) является структурным аналогом VN домена иммуноглобулинов. Этот небольшой белок не содержит остатков цистеина и хорошо экспрессируется в клетках *E. coli* в растворимой форме. Варьирование аминокислотных последовательностей в петлевых участках Fn3, соответствующих CDR в молекулах антител, позволяет получать белки, обладающие способностью связывать различные антигены.

Целью работы явилась оптимизация конструирования библиотек кодирующих последовательностей домена фибронектина с рандомизированными петлевыми участками и получение методом CIS-дисплея белков, связывающих фактор некроза опухолей человека (TNF). Были получены 2 библиотеки кодирующих последовательностей домена фибронектина: с рандомизированными тремя петлевыми участками BC, DE и FG и с рандомизацией петель BC и FG. Далее обе библиотеки были объединены с фрагментом ДНК, кодирующим белок RepA и последовательностью *ori*. Проведено 3 раунда селекции библиотек при помощи бесклеточного CIS-дисплея с отбором вариантов, связывающих биотинилированный TNF, сорбированный на магнитном носителе Dynabeads M-280 Streptavidin. Подобраны различные варианты отбора связавшихся последовательностей. Полученные конструкции экспрессированы в клетках *E. coli*, рекомбинантные белки охарактеризованы иммунологическими методами. Показано, что библиотека с двумя переменными петлями и петлей DE дикого типа дает большее число эффективно взаимодействующих с TNF клонов, а соответствующие белки в целом более растворимы в бактериальных клетках. Таким образом, петля DE дикого типа вносит стабилизирующий вклад в структуру рекомбинантных белков и не играет существенной роли в связывании с антигеном.

Работа проводится при финансовой поддержке гранта НШ-5597.2012.4 и программы РАН «Молекулярная и клеточная биология».

СЕКЦИЯ 4

Биологическая активность.
Взаимосвязь «структура-функция»

РОЛЬ ЭНДОГЕННОЙ АБК В РЕГУЛЯЦИИ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ УРОВНЯ 30 кДа ДЕГИДРИНА В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ КАДМИЕВОГО СТРЕССА

Аллагулова Ч.Р., Ключникова Е.О., Масленникова Д.Р., Шакирова Ф.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, 450054, г. Уфа, пр. Октября 71

E-mail: shakirova@anrb.ru

Белки дегидрины накапливаются в зародышах семян в период позднего эмбриогенеза и в вегетирующих растениях в ответ на обработку АБК и обезвоживание. Как известно, воздействие ионов тяжелых металлов (ТМ) вызывает нарушение водного режима в растениях. Несмотря на то, что в литературе накапливаются сведения о вовлечении дегидринов в связывание и нейтрализацию избытка ионов ТМ, пути регуляции их синтеза в этих условиях мало исследованы. Ранее нами было показано, что предобработка проростков пшеницы салициловой кислотой (СК) существенно снижает степень повреждающего действия кадмия на ростовые процессы. Основываясь на данных о важной роли эндогенной АБК в реализации преадаптирующего действия СК на растения пшеницы, можно было предположить вклад дегидринов в проявление протекторного эффекта СК в условиях кадмиевого стресса. Работа посвящена сравнительному анализу количественных изменений в уровне иммунореактивных к антителам, полученным к обязательному для дегидринов К-сегменту белков в предобработанных и необработанных СК растениях пшеницы, подвергнутых воздействию ацетата кадмия, и оценке вклада СК-индуцированного накопления АБК в регуляции уровня дегидринов. Результаты Вестерн-блоттинга выявили чувствительность разных дегидринов пшеницы к воздействию 1 мМ ацетата кадмия, при этом дегидрин с М.м. 30 кДа проявил наиболее выраженную реакцию на стресс. В предобработанных СК проростках уровень накопления 30 кДа дегидрина был заметно ниже, что свидетельствует о меньшей степени повреждающего действия кадмия на эти растения в сравнении с таковыми необработанными гормоном. Вместе с тем, совместная с СК предобработка проростков ингибитором синтеза АБК флуридоном полностью предотвратила стресс-индуцированное накопление данного белка и защитный эффект СК на рост пшеницы. Полученные данные указывают на вовлечение 30 кДа дегидрина в проявление протекторного эффекта СК на растения пшеницы к кадмиевому стрессу и ключевую роль эндогенной АБК в регуляции СК количественного уровня дегидрина в растениях пшеницы при стрессе.

Антитела к дегидринам любезно представлены проф. Т.Т. Close, США). Работа поддержана грантом РФФИ № 11-04-97051_поволжье.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ - ОСНОВА СОЗДАНИЯ НОВЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ ВАЖНЫХ ВЕЩЕСТВ

Андреева Л.А.¹, Гривенников И.А.¹, Левицкая Н.Г.¹, Долотов О.В.¹, Кошелев В.Б.², Гаврилова С.А.², Дубынин В.А.³, Сарычева Н.Ю.³, Мясоедов Н.Ф.¹.

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук, 123182, г. Москва, пл. Курчатова, д.2

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "МГУ имени М.В. Ломоносова", Факультет фундаментальной медицины 119192, Ломоносовский пр-т., д. 31, корп. 5

³Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "МГУ имени М.В. Ломоносова", биологический факультет, 119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1

E-mail: landr@img.ras.ru

В сообщении рассматриваются структурно функциональные исследования фрагментов АКТГ₄₋₁₀, обладающие нейротропными эффектами. В качестве пептида сравнения использовался фрагмент АКТГ₄₋₇ пролонгированный за счет присоединения к молекуле пептида фрагмента PGP. Синтезированы пептиды АКТГ₆₋₉PGP, АКТГ₇₋₁₀PGP, АКТГ₄₋₁₀PGP. Сравнительные исследования нейропротективных эффектов этих пептидов, данные по которым приведены в сообщении, показали, что пептид АКТГ₆₋₉PGP имеет свойства, сравнимые с пептидом семакс, и может рассматриваться в качестве кандидатного пептида для создания на его основе нового лекарственного препарата с нейропротекторными свойствами. Структурно-функциональные исследования N-концевого фрагмента ноцицептина позволили также выявить фармакологически важную аминокислотную последовательность. Синтезированы пептиды Phe-Gly-Gly-Phe-Gly-Pro, Phe-Gly-Gly-Phe-Pro-Gly-Pro, Phe-Gly-Gly-Phe-Val-Gly-Pro, Phe-Gly-Gly-Phe-Val-Glu-Pro, которые исследованы на поведенческую активность. В результате этих исследований отобран пептид Phe-Gly-Gly-Phe-Val-Gly-Pro, обладающий нейротропными свойствами и представляющий практический интерес для дальнейших комплексных исследований в плане возможного его клинического применения. Проведение комплексных структурно-функциональных исследований являются необходимым при создании новых лекарственных препаратов на основе пептидов.

Работы выполнены при поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология», гранта Президента РФ для поддержки ведущих научных школ № НШ-2628.2012.4.

**ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ *NICOTIANA TABACSCUM L.* КАК
МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ФУНКЦИЙ
ЛЕКТИНА *GOL2 GALEGA ORIENTALIS***

Чубукова О.В., Баймиев Ан.Х., Вершинина З.Р., Баймиев Ал.Х.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, 450054 Уфа, ул. Проспект Октября, 71

E-mail: chubukova@bk.ru

Функции растительных лектинов чрезвычайно многообразны. У бобовых растений данные белки принимают участие в процессе узнавания «свой-чужой» при взаимодействии с микроорганизмами, специфично прикрепляя их к корню растения. Данный класс лектинов содержится в большом количестве в семенах, а в других тканях их содержание обычно невелико. Успешное прикрепление ризобии к корневому волоску облегчает образование инфекционной нити, которая необходима для формирования азотфиксирующего клубенька. В связи с этим в литературе есть мнение, что данное свойство лектинов играет важную роль в специфичности взаимного узнавания макро- и микросимбионтов при формировании азотфиксирующего симбиоза. Растение козлятник восточный *Galéga orientalis* характеризуется высокой специфичностью узнавания своего микросимбионта *Rizobium galegae* *bv. orientalis*. Ранее нами было показано, что препарат тотального белка из семян данного растения способен специфично агглютинировать бактерии *Rizobium galegae* *bv. orientalis* и не связывает другие ризобияльные бактерии. Но в отличие, например, от гороха посевного, у которого в семенах содержится единственный лектин PSL, у козлятника восточного обнаружено два сильно различающихся лектина (GOL1 и GOL2) и пока еще нет данных о том, который из лектинов принимает участие во взаимодействии растения с микросимбионтом. В связи с этим нами были получены трансгенные растения *Nicotiana tabacum* с геном белка лектина GOL2. С целью выявления локализации трансгенного белка в опытных растениях к исследуемому белку были получены антитела. Вестерн-блот анализ выявил, что целевой белок экспрессируется как в корнях, так и в листьях трансгенных растений. С помощью иммунофлуоресцентного анализа показана локализация целевого белка на поверхности корней опытных растений. Таким образом, можно считать, что нами получено модельное трансгенное растение, пригодное для дальнейшего исследования роли лектина козлятника восточного GOL2 во взаимодействии с симбиотическим микроорганизмом *Rizobium galegae* *bv. orientalis*.

Данная работа проводилась при финансовой поддержке РФФИ (Соглашения 12-04-31277).

**КАНАЛ ПОРИНА 2 ОБЕСПЕЧИВАЕТ ПЕРЕНОС ЛИЗИНОВОЙ
ТРАНСПОРТНОЙ тРНК (tRNA^{Lys}) ИЗ ЦИТОЗОЛЯ В МАТРИКС
МИТОХОНДРИЙ SACCHAROMYCES CEREVISAE**

Высоких М.Ю.^{1,2}, Антоненко Ю.Н.¹, Каменский П.А.¹, Колесникова О.А.²,
Рокицкая Т.И.¹, Тарасов И.², Ширтц Т.², Энтелис Н.²

¹Научно-Исследовательский Институт Физико-Химической Биологии
имени А.Н.Белозерского МГУ, 119992, г.Москва, Ленинские горы, д.1, стр.40

²UMR 7156 CNRS – UdS, Strasbourg, 67000 rue Rene Descartes, 21

E-mail: mike@genebee.msu.su

В *Saccharomyces cerevisiae* одна из трех транспортных лизинового РНК (TRK1) присутствует только в митохондриях и принимает участие в митохондриальной трансляции, что является критичным в условиях температурного стресса. Импорт преаминоацилированной в цитозоле TRK1 в митохондрии имеет АТФ/ ΔΨ зависимый характер, также требуются два цитозольных фактора - енолаза-2 и цитозольный предшественник митохондриальной лизил-тРНК-синтетазы (preMSK). Хотя симпорт preMSK и TRK1 опосредован системой импорта белков в митохондрии, было показано, что после блокировки канала Tom40 примерно половина TRK1 по-прежнему успешно импортируется в митохондрии. С помощью гибридизационного анализа и tandemной масс-спектрометрии выявлена группа белков, среди которых митохондриальные порины 1, 2 (Por1, POR2) и Tom40 идентифицированы как связывающие TRK1.

Хотя в течение длительного времени POR2 не считали активным каналоформером, митохондрии из ΔPOR1 штамма способны импортировать значительное количество TRK1 в присутствии заблокированного *cytb2-DHFR* канала Tom40. Эксперименты на липосомах, полученных из наружной мембраны митохондрий штаммов дикого типа и ΔPOR1, 2 подтвердили важную роль POR2 белка в TRK1 импорте. В экспериментах с протеолипосомами и плоскими бислойными мембранами было показано, что очищенный POR2 обеспечивает транспорт углеводов и нуклеотидов через мембрану также, как и POR1, и формирует катион-селективные каналы с проводимостью около 2 нСм и рН-зависимым механизмом закрытия каналов. Роль POR2 обсуждается в рамках изучения механизма импорта тРНК и разработки технологии доставки "терапевтических" молекул РНК в митохондрии с нарушениями в митохондриальной ДНК.

Работа выполнена при поддержке РФФИ по гранту для фундаментальных исследований № 12-04-00001-а, а также 12-04-93105-НЦНИЛ_а и программой ARN Mitotar Французской Академии Наук.

КОРРЕКЦИЯ ПРЕПАРАТОМ СЕМАКС НЕГАТИВНЫХ ЭФФЕКТОВ НЕОНАТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ФЛУВОКСАМИНА

Глазова Н.Ю.¹, Мерчиева С.А.², Андреева Л.А.¹, Левицкая Н.Г.¹,
Каменский А.А.², Мясоедов Н.Ф.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики РАН, 123182, г. Москва, пл. Курчатова, д.2

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, 119991, Москва, Ленинские горы, д.1, стр.12

E-mail: Tusy-g@yandex.ru

Препарат флувоксамин относится к группе селективных ингибиторов обратного захвата серотонина, фармакологических препаратов обладающих антидепрессантной активностью. Целью представленной работы явилось изучение отставленных эффектов хронического неонатального введения флувоксамина (ФА) детенышам белых крыс и оценка возможности их коррекции последующим введением препарата семакс (МЕНФРР). Опыты проводили на детенышах нелинейных белых крыс. Крысят каждого выводка делили на 3 группы – контроль, ФА, ФА-сем. С 1 по 14 дни жизни животным групп ФА и ФА-сем ежедневно внутрибрюшинно вводили водный раствор ФА (10 мг/кг), контрольные крысы получали инъекции растворителя в те же сроки. С 15 по 28 дни жизни крысам группы ФА-сем ежедневно интраназально вводили водный раствор семакса (0.05 мг/кг), остальные животные получали инъекции растворителя. У крысят ежедневно регистрировали изменение массы тела и возраст открытия глаз. У части животных в возрасте 16 дней измеряли содержание серотонина и его метаболита в мозге. В возрасте 30 дней оценивали поведение животных в тестах Открытое поле и Приподнятый крестообразный лабиринт.

Было показано, что процент летальности в группе с введением ФА был достоверно выше, чем в контроле. Кроме того, ФА приводил к снижению возраста открытия глаз. У крысят, получавших ФА, наблюдалось замедление соматического роста. Семакс оказывал нормализующее действие на массу тела крыс. Введение ФА приводило к увеличению содержания метаболита серотонина 5ГИУК в гиппокампе, стриатуме, гипоталамусе и фронтальной коре крыс. В тестах Открытое поле и Приподнятый крестообразный лабиринт у животных, получавших ФА, наблюдалось снижение двигательной активности и увеличение тревожности. Введение семакса возвращало эти показатели к контрольным значениям. Полученные данные свидетельствуют о том, что хроническое неонатальное введение ФА влияет на физическое развитие, приводит к увеличению тревожности и снижению двигательной активности животных. Введение семакса ослабляет негативные эффекты ФА.

Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология” и РФФИ (грант № 11-04-01329).

МОДУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ 2-ОКСОГЛУТАРАТ-ДЕГИДРОГЕНАЗНОГО КОМПЛЕКСА (ОГДК) У САМОК И САМЦОВ КРЫС В РАЗНЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ

Кулаковская Е.А.¹, Граф А.В.¹, Хиразова Е.Э.¹, Маслова М.В.¹, Крушинская Я.В.¹, Соколова Н.А.¹, Бунник В.И.²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова 119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского 119899, г. Москва, Воробьевы горы, кор. А

E-mail: stasy_gr@pochta.ru

Женские особи являются более резистентными к стрессовым воздействиям. Но при этом реактивность женского организма существенно перестраивается в период беременности. Несмотря на имеющиеся сведения о различиях в стресс-устойчивости самок и самцов, вопрос о причинах этих различий остается открытым. Исследование предполагает изучение различных уровней организации стрессорных реакций, в том числе, на уровне регуляции энергетического обмена. Одним из ключевых ферментов цикла Кребса является оксоглутарат дегидрогеназный комплекс (ОГДК). Известно, что метаболический дисбаланс продуктов и субстратов ОГДК, сопровождающий ряд патологических состояний, может стимулировать побочные реакции, катализируемые ферментом, что влечет за собой функциональные нарушения работы различных систем. Ранее было показано, что фосфоновые аналоги 2-оксоглутарата (в частности, сукцинилфосфонат, СФ) способны к высокоспецифичной регуляции данного фермента. В связи с этим целью нашей работы было исследование эффектов СФ на активность ОГДК в мозге и сердце самок и самцов крыс; и на активность ОГДК в мозге беременных крыс. Самкам и самцам опытных групп интраназально вводили СФ в дозе 5 мкг/кг. Через сутки после введения животных декапитировали и извлекали сердце и мозг для определения активности ОГДК. Активность ферментного комплекса определяли спектрофотометрически. Сравнение самок и самцов выявило значимые гендерные различия в активности ОГДК: как в мозге, так и в сердце. Активность фермента у самок была значимо выше, чем у самцов (на 159,7 и 74,3% соответственно). Направленная регуляция активности ОГДК сукцинилфосфонатом приводила к снижению данного показателя у самок и в мозге, и в сердце, в то время как у самцов наблюдалось разнонаправленное изменение активности ОГДК: снижение в мозге и увеличение в сердце. Активность ОГДК в мозге у беременных животных снижена более чем на 20% по сравнению с нормой. После введения СФ активность ОГДК достоверно ($p < 0.05$) снижалась по сравнению с контролем у небеременных и увеличивалась у беременных. Таким образом, было установлено, что уровень активности ОГДК в мозге беременных самок и в мозге и сердце самцов ниже, чем у контрольной группы самок. Данные различия могут предопределять различную реактивность на стрессорные и другие воздействия, что, в частности, было показано в нашей работе при модуляции активности ОГДК СФ-ом.

**ОЛИГОПЕПТИДНЫЕ ФРАГМЕНТЫ КОЛЛАГЕНА КАК
ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МОДУЛЯТОРЫ ДОМЕНОВ
КОНФОРМАЦИОННОЙ ПОДСТРОЙКИ ПЕРВИЧНЫХ ЦЕНТРОВ
СВЯЗЫВАНИЯ АДГЕЗИОННЫХ РЕЦЕПТОРОВ**

Иванова В.П.¹, Ковалева З.В.², Анохина В.В.³, Сорочинская Е.И.³,
Кривченко А.И.¹

¹ *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова Российской академии наук, 194223, С.Петербург, пр. Гореза, 44;*

² *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской академии наук, 194064, С.Петербург, Тихорецкий пр. 4*

³ *Санкт-Петербургский государственный университет*

E-mail: valet@iephb.ru

Исследовали влияние трипептидного фрагмента коллагена GER на адгезию эмбриональных фибробластов мышцы линии STO. В качестве субстратов прикрепления использовали фибронектин или желатин, иммобилизованные на полистироловом пластике. Показано, что трипептид увеличивал число прикрепившихся клеток ко всем использованным субстратам. Вызванный пептидом эффект стимулирования клеточной адгезии на иммобилизованном желатине был значительно ниже такового на необработанном пластике и на иммобилизованном фибронектине. Усиление процессов адгезии фибробластов под действием исследованного пептида может быть обусловлено активацией интегриновых рецепторов через ускорение конформационной подстройки поверхностных участков α - и β -субъединиц, формирующих сайты узнавания интегринов. Скорее всего, пептид взаимодействует аллостерически через вторичные или третичные центры связывания, которые можно обозначить как домены конформационной подстройки первичных центров связывания. По-видимому, такие домены конформационной подстройки не обладают высокой специфичностью связывания, но вероятнее всего, содержат остатки разноименно заряженных аминокислот. При взаимодействии пептида с такими модулями может происходить частичная нейтрализация заряда на локальном участке рецептора, что приведет к местному изменению конфигурации интегриновой молекулы, что не может не сказаться на функциональной активности рецептора. Активация процессов лиганд-связывания под действием пептида, в свою очередь, приведет к увеличению скорости создания кластеров интегринов и укрупнению этих кластеров, что, безусловно, будет способствовать росту адгезионной способности у клеток.

**СТЕРЕОСПЕЦИФИЧНОСТЬ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ
НЕЙРОПЕПТИДА ЦИКЛО-ПРОЛИЛГЛИЦИНА**

Колясникова К.Н., Гудашева Т.А., Середенин С.Б.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фармакологии им. В.В. Закусова РАМН 125315, г. Москва, Балтийская ул., д.8

E-mail: koliasnikova@gmail.com

Циклопролилглицин (ЦПГ) – эндогенный циклический дипептид, открытый в мозге крыс (Гудашева Т.А. и др., 1996). Он обладает антиамнестической (Гудашева Т.А. и др., 1999), анксиолитической (Гудашева Т.А. и др., 2001), антигипоксической и нейропротективной активностями (Колясникова К.Н. и др., 2012). Целью данного исследования явилось изучение стереоспецифичности фармакологических эффектов ЦПГ. Для этого нами был проведен синтез его *D*-энантиомера и изучен спектр его фармакологической активности.

D-ЦПГ был получен циклизацией при нагревании Gly-*D*-Pro-OEt, который, в свою очередь, был синтезирован из *N*-третбутилоксикарбонилглицил-*D*-пролина. Антиамнестическая активность была изучена на крысах в тесте условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) с амнезией, вызванной электроконвульсивным шоком. Анксиолитическую активность также изучали на крысах в тесте приподнятого крестообразного лабиринта. Антигипоксическая активность была изучена в тесте нормобарической гипоксии с гиперкапнией на самцах белых беспородных мышей. Нейропротективную активность исследовали на клеточной культуре нейробластомы человека линии SH-SY5Y в условиях 6-оксидофаминовой токсичности.

В отличие от *L*-энантиомера, *D*-энантиомер не обладал анксиолитической, антигипоксической и нейропротективной активностью в интервале активных доз *L*-ЦПГ. В тесте УРПИ он ухудшал процессы обучения и памяти. Полученные результаты свидетельствуют о стереоспецифичности фармакологических эффектов ЦПГ.

ПОСТ-АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ КАТИОННОГО ПЕПТИДА ВАРНЕРИНА

Полюдова Т.В., Лемкина Л.М., Коробов В.П.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13

E-mail: poludova@iegm.ru

Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) – один из главных микробиологических параметров, используемых для прогнозирования эффективности антибактериальных соединений. Однако, предметом научного и клинического интереса в последнее время становится и другой показатель – т.н. пост-антибактериальный эффект (ПАЭ), являющийся важным аргументом в разработке режимов дозирования антибиотических препаратов (Pankuch, Appelbaum, 2009). Изучение ПАЭ низкомолекулярного пептида варнерина, синтезируемого бактериями *Staphylococcus warneri* IEGM KL-1 (Коробов и др. 2010), было проведено в отношении бактерий *S. epidermidis* 33. Бактериальные клетки, отобранные в середине лог-фазы роста культуры на жидкой питательной среде LB, инкубировали в течение 1 ч в 10 мМ трис-HCl буфере, pH 7.2, содержащем 0,5 МИК варнерина, а затем дважды отмывали тем же буфером (12000g, 5мин), переносили в свежую жидкую среду LB и продолжали культивировать при 37°C при аэрации в течение 24 ч. Антибактериальное действие пептида оценивали путем определения количества колониеобразующих единиц (КОЕ/мл) высевом аликвот соответствующих разведений суспензий клеток на плотную питательную среду LB.

Результаты экспериментов показали, что инкубация бактерий с варнерином в буфере в течение 1 ч приводила к снижению показателя КОЕ в 3 раза. При последующем переносе отмытых от пептида бактерий в богатую среду наблюдалась дальнейшая их гибель и через 18 ч инкубации количество жизнеспособных клеток снижалось еще на 2 порядка, после чего на протяжении 2 ч выявлялся период стабилизации с сохранением количества КОЕ на постоянном уровне, а затем численность бактерий начинала возрастать и через сутки культивирования достигала исходного уровня. Таким образом, ПАЭ варнерина при использованной концентрации пептида продолжался не менее 18 ч, в течение которых наблюдалось постоянное снижение численности КОЕ. Возможной причиной такого длительного подавления варнерином роста микробной популяции является не только достижение пептидом внутриклеточных мишеней, но и значительное связывание пептида анионными компонентами клеточных стенок бактерий, пролонгирующее проявление его антибиотических свойств.

Работа поддержана грантами РФФИ №№ 11-04-96025-р_урал_a и 12-04-10431-а, Программы «МКБ» Президиума РАН №12-П-4-1002 и УрО РАН № 12-М-14-2035.

**АКТИВАЦИЯ АУТОЛИТИЧЕСКОГО РАСЩЕПЛЕНИЯ
БИОПЛЕНОК *S.EPIDERMIDIS* 33 КАТИОННЫМ ПЕПТИДОМ
ВАРНЕРИНОМ**

Лемкина Л.М.¹, Филатова Л.Б.¹, Полюдова Т.В.¹, Морозов И.А.²,
Коробов В.П.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения РАН, 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт механики сплошных сред Уральского отделения РАН, 614013, г. Пермь, ул. Академика Королева, 1

E-mail: korobov@iegm.ru

Одним из направлений антибактериального действия катионного пептида варнерина является показанная нами активация аутолизиса атакуемых планктонных бактерий [Korobov V.P. et al, 2010]. В настоящей работе приведены результаты исследования чувствительности к этому пептиду систем аутолизиса биопленок стафилококков, играющих существенную роль в поддержании их природной устойчивости, а также патогенезе т.н. катетер-ассоциированных инфекций. Задача исследований - изучение чувствительности к варнерину системы аутолизиса биопленок *S.epidermidis* 33. На отмытые от планктонных клеток пленки, полученные культивированием бактерий в богатой среде LB на чашках Петри при 37°C в течение 24 ч, наносили препарат пептида (50 мкМ) и продолжали инкубирование в течение 4 и 24 ч. За динамикой биомассы пленок следили по связыванию с ними генцианвиолета, а их жизнеспособность выявляли использованием системы CPA (Promega). Анализ спектров аутолизиса пленок проводили ренатурируемым электрофорезом супернатантов сред в 9% ПААГе. Изменения структуры бактериальных пленок под действием пептида выявляли атомно-силовой микроскопией препаратов на приборе Nano-DST (PacificNanotechnology).

Результаты исследований свидетельствуют о том, что инкубация биопленок стафилококков с варнерином приводит к существенным нарушениям их физиологических характеристик: через 4 ч действия пептида биомасса пленок снижается в 6.5-7 раз, а через сутки - более, чем в 20 раз. Количество живых клеток в биопленках в эти сроки наблюдения также значительно падает, соответственно, в 3 и 6 раз. Энзимографически выявляется выраженная активация пептидом значительно большего числа аутолитических ферментов биопленок, по сравнению с планктонными бактериями. Морфологическим анализом действия варнерина на сформированные биопленки стафилококков обнаружены значительные нарушения их структуры со сменой «пейзажа» – от горных вершин до каменистых равнин.

Работа поддержана грантами РФФИ №№ 11-04-96025-р_урал а и 12-04-10431-а, Программы «МКБ» Президиума РАН №12-П-4-1002 и УрО РАН № 12-М-14-2035.

**УЧАСТИЕ ГЕТЕРОМЕРНЫХ НИКОТИНОВЫХ
АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ НЕЙРОНАЛЬНОГО ТИПА В
МЕХАНИЗМАХ ПЛАСТИЧНОСТИ МОЗГА У МЫШЕЙ С
МОДЕЛЬЮ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА**

Крюкова Е.В.¹, Шелухина И.В.¹, Козина Е.А.², Угрюмов М.В.², Цетлин В.И.

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Москва, 117997, ул. Миклухо-Маклая 16/1

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К.Кольцова РАН, Москва, 1119334, ул. Вавилова, д.26

E-mail: evkr@mail.ru

Основными элементами патогенеза болезни Паркинсона (БП), является дегенерация нейронов базальных ядер (стриатума и черной субстанции - ЧС) и снижение уровня дофамина (ДА) и дофаминэргических рецепторов в мозге пациентов, что приводит к нарушению моторной функции. При этом также происходит нарушение холинергической регуляции ДА-ергических нейронов и уменьшение содержания никотиновых ацетилхолиновых рецепторов (нАХР). Известно позитивное влияние никотина на течение БП у курильщиков и на улучшение состояния модельных животных с моделью паркинсонизма. Это свидетельствует о возможности использования специфических агонистов нАХР для нейропротекторного или симптоматического воздействия при БП. Цель данной работы - определить изменение экспрессии нАХР и их функциональной активности у мышей на модели досимптомной стадии паркинсонизма. Модель досимптомной стадии БП была создана путем двукратного подкожного введения мышам самцам линии C57Bl/6 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина (МФТП) в дозе 12 мг/кг веса тела с 2-х часовым интервалом. Через 2 недели после введения МФТП с помощью радиолигандного анализа измеряли количества нАХР в гомогенатах стриатума и ЧС опытных и контрольных животных. Количество участков связывания эпibatидина у контрольной группы оказалось одинаковым в стриатуме и ЧС и составило 20 фмоль/мг белка. У мышей на досимптомной стадии БП обнаружено статистически значимое снижение эпibatидин-связывающих участков в стриатуме на 33,5% от уровня контроля, что соотносится с обнаруженной ранее дегенерацией ДА-ергических аксонов стриатума (Ugumov et al., 2011). В ЧС наблюдалась тенденция повышения уровня гетеромерных $\alpha 4\beta 2$ нАХР. Учитывая, что на данной модели БП отмечается уменьшение количества тел ДА-ергических нейронов в ЧС (Ugumov et al., 2011), уровень экспрессии гетеромерных нАХР на оставшихся нейронах увеличился примерно в два раза по сравнению с контролем. Таким образом, компенсаторное увеличение содержания нАХР в ЧС является реакцией на повреждающее действие нейротоксина и может приводить к отсутствию клинических проявлений БП.

ВЛИЯНИЕ ЛИПОФИЛЬНЫХ КАТИОНОВ НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ RGD-ПЕПТИДОВ

Леко М.В.¹, Похвощева А.В.¹, Дорош М.Ю.¹, Васина Л.В.², Петрищев Н.Н.², Буров С.В.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт высокомолекулярных соединений РАН, 199001, г. С.-Петербург, В.О., Большой пр., 31

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздрава России 197341, г. С.-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

E-mail: burov@hq.macro.ru

Включение в структуру лекарственных соединений липофильных катионов типа трифенилфосфония во многих случаях повышает эффективность действия препаратов и способствует их проникновению через биологические мембраны (Murphy, et.al., 2007; Skulachev, et.al., 2008). С целью изучения влияния липофильных катионов на антиагрегантные свойства RGD-пептидов нами синтезирована серия линейных и циклических аналогов, содержащих последовательность RGDF и различное количество ковалентно связанных трифенилфосфониевых группировок.

Синтез пептидов проводили твердофазным методом с применением Fmoc/Bu^t стратегии. В случае циклических пептидов линейные предшественники получали на Cl-Trt полимере и циклизовали с помощью HCTU в диметилформамиде. Для введения в структуру аналогов липофильных катионов, использовали 4-карбоксивбутилтрифенилфосфония бромид, который присоединяли по N-концевой аминогруппе DIC/HOBt методом.

Биологическую активность полученных соединений исследовали на модели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов в экспериментах на цельной крови доноров. Данные биологических испытаний показывают, что введение в структуру аналога трифенилфосфониевой группировки приводит к значительному усилению антиагрегантного действия *in vitro*. При этом, как в случае линейных, так и циклических препаратов, наблюдается снижение IC₅₀ не менее чем в 2-4 раза. Анализ литературных данных показывает, что модификация липофильными катионами может способствовать увеличению сродства аналогов к соответствующим рецепторам. В тоже время присоединение второй трифенилфосфониевой группы не приводит к дальнейшему повышению эффективности действия.

Полученные результаты свидетельствуют о существенном влиянии липофильных катионов на биологическую активность аналогов RGD-пептидов, что может быть использовано при разработке новых лекарственных препаратов, препятствующих тромбообразованию.

ВЛИЯНИЕ АКТГ(15-18)PGR НА ПОСЛЕДСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОГО НЕПРЕДСКАЗУЕМОГО СТРЕССА У БЕЛЫХ КРЫС

Манченко Д.М.¹, Захаров А.М.¹, Андреева Л.А.², Иноземцева Л.С.²,
Левицкая Н.Г.², Мясоедов Н.Ф.²

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, 119991, Москва, Ленинские горы, д.1, стр.12.

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук, 123182 Москва, пл. академика И.В. Курчатова, д. 2

E-mail: dashishka@mail.ru

Адренкортикотропный гормон (АКТГ) является важнейшим компонентом гипоталамо-гипофизарно-адреналовой (ГГА) оси. Взаимодействуя с меланокортиновыми рецепторами второго типа (MCR2) в надпочечниках, он приводит к выбросу глюкокортикоидов. Повышенный выброс глюкокортикоидов при хроническом стрессе является одним из факторов патогенеза различных заболеваний. Для активации MCR2 необходимо присутствие в структуре лиганда последовательности АКТГ(15-18). Исследование эффектов данного фрагмента показало, что он связывается с MCR2 и вызывает уменьшение стресс-вызванного выброса кортикостерона. Целью данной работы явилось изучение эффектов хронического введения синтетического аналога пролонгированного действия АКТГ(15-18)PGR на фоне хронического непредсказуемого стресса (ХНС). Пептид вводили внутривентрикулярно в течение 15 дней в дозе 50 мкг/кг. Было показано, что ХНС приводит к замедлению возрастания массы тела, повышению тревожности и увеличению массы надпочечников. Хроническое введение гептапептида животным на фоне ХНС усиливает эффекты стресса – отмечается повышение стресс-вызванной тревожности, а также увеличение продолжительности стресс-вызванной гиперальгезии. Влияния на изменение массы тела крыс введение пептида не оказывало. У крыс, получавших гептапептид, отмечается более выраженное увеличение надпочечников по сравнению с группой “стресс”. Таким образом, введение АКТГ(15-18)PGR на фоне ХНС приводит к увеличению выраженности стресс-вызванных изменений поведения, болевой чувствительности и массы надпочечников. Можно предположить, что механизмом наблюдаемых эффектов является ослабление отрицательной обратной связи в ГГА оси под действием использованного пептида.

Работа поддержана Программой Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология”, Программой “Ведущие Научные Школы” (НШ 2628.2012.4) и РФФИ (грант № 11-04-01329).

ПЕПТИДЫ СЕМЕЙСТВА DSIP: ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ

Оноприенко Л.В.¹, Михалева И.И.¹, Прудченко И.А.¹, Чикин Л.Д.¹,
Мурашев А.Н.², Лобанов А.В.², Иванов В.Т.¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10,

²Филиал Института биоорганической химии им. акад. М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН г. Пущино, Московская обл.

E-mail: onolv@mail.ru

Пептид дельта-сна (DSIP) известен как природный нейропептид модуляторного действия, обладающий широким спектром биологической активности. Несмотря на большое количество работ, посвященных разным аспектам изучения DSIP, оставались неизвестными ответы на вопросы о биосинтетическом происхождении пептида, его белковом предшественнике и кодирующем гене. Недавно нами в ходе компьютерного анализа доступных баз данных о реальных и гипотетических белковых структурах был выявлен предполагаемый белок-предшественник пептида и кодирующий его ген (Mikhaleva et al., 2011). Гомологичный DSIP пептид K²,N⁵-DSIP (KND) был обнаружен как фрагмент 324-332 лизин-специфичной гистоновой деметилазы 3 В человека. Эта деметилаза входит в семейство JmjC-домен-содержащих гистоновых деметилаз, присутствующих в тканях различных млекопитающих и участвующих в эпигенетической регуляции структуры хроматина и транскрипции генов при адаптации клеток к действию стрессовых стимулов.

В итоге сравнительного изучения DSIP и KND в ряде тестов *in vivo* было показано, что антиоксидантные, противосудорожные и поведенческие эффекты пептида были функционально сходными, а активность пептида KND оказалась более выраженной в сравнении с DSIP (Михалева с соавт., 2013).

В продолжение изучения биологических свойств и механизма действия пептидов семейства DSIP, проведено исследование детоксикационной активности пептидов этой группы на модели токсикоза, вызываемого введением грызунам цитостатика на фоне курсового введения пептидов. Выявлены корректирующие эффекты исследуемых аналогов DSIP и KND на цисплатин-индуцируемые гематологические отклонения и уменьшение степени выраженности проявлений токсического действия цитостатика на печень, почки и селезенку по ряду показателей. Полученные результаты свидетельствуют о возможной перспективности медицинского использования этих пептидов в качестве средств снижения степени токсичности цитостатиков при их терапевтическом применении.

Работа выполнена при финансовой поддержке Департамента науки и промышленной политики г. Москвы.

**МОДУЛЯЦИЯ ХИТОЗАНОМ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ДЕФЕНЗИНА
У МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ**

Назмиев Б.К., Мурзагулов Г.С., Салтыкова Е.С., Поскряков А.В.,
Николенко А.Г.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, 450054, г. Уфа,
пр. Октября, 71*

E-mail: saltykova-e@yandex.ru

Показано, что при попадании в организм медоносной пчелы олигомеров хитина происходит инициация транскрипционной активности генов дефензина и абецина. Фоновый характер экспрессии генов антимикробных пептидов свидетельствует о его важной роли в формировании иммунологического гомеостаза насекомого. Химическая лабильность хитозана позволяет получать гомологи и аналоги с различными вариантами физико-химических и биологических свойств. Еще одним важным аспектом изучения насекомых являются компоненты их иммунной системы - антибактериальные пептиды. Антибактериальные пептиды насекомых представляют собой эффективные в отношении большого спектра патогенных микроорганизмов природные соединения. Хотя они несколько уступают антибиотикам по эффективности, однако действуют быстрее и, что самое главное, уничтожают бактерии, устойчивые к известным антибиотикам. К тому же использование антибиотиков в пчеловодстве запрещено.

Антимикробные пептиды беспозвоночных обладают целым спектром функциональных свойств, свидетельствующих об их участии во взаимодействии систем врожденного и приобретенного иммунитета, что делает их важным объектом изучения. Хотя исследования антибактериальных пептидов животных проводятся уже более 40 лет, видовой состав организмов, которые были изучены в этой области, составляет ничтожную часть от общего числа известных видов. Для понимания закономерностей эволюции механизмов противoinфекционной защиты, необходимо дальнейшее накопление знаний о структуре и функциональных свойствах антибактериальных пептидов у разных видов живых организмов. С точки зрения сравнительной биохимии представляет интерес изучение антибактериальных пептидов у представителей ключевых в эволюционном плане групп насекомых, в частности медоносной пчелы.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта р_поволжье_a № 11-04-97078.

НЕГАТИВНЫЕ ВЛИЯНИЯ МАТЕРИНСКОЙ ДЕПРИВАЦИИ НА АДАПТИВНЫЕ РЕАКЦИИ ПОТОМСТВА БЕЛЫХ КРЫС И ИХ КОРРЕКЦИЯ ГЕПТАПЕПТИДОМ СЕМАКС

Себенцова Е.А.¹, Суханова Ю.А.², Володина М.А.³, Яценко К.А.¹,
Левицкая Н.Г.¹, Каменский А.А.²

¹ *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики РАН, 123182, г. Москва, пл. Курчатова, д.2*

² *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский Государственный Университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, 119991, Москва, Ленинские горы, д.1, стр.12*

³ *Федеральное государственное бюджетное учреждение Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова МЗ РФ, 117997, г. Москва, ул. Опарина, д. 4.*

E-mail: sebensova@list.ru

Неонатальный стресс является одним из серьезных факторов риска, приводящих к развитию тревожных и депрессивных расстройств во взрослом возрасте. Широко используемой моделью неонатального стресса у грызунов является материнская депривация (МД). Целью представленной работы явилось изучение влияния стресса, вызванного неонатальной индивидуальной МД, на показатели физического развития, параметры поведения и уровень нейротрофического фактора мозга BDNF, а также оценка возможности коррекции эффектов МД последующим введением семакса. Работа выполнена на детенышах нелинейных белых крыс. Каждый выводок делили на 3 группы. Контрольные животные в первые две недели жизни не извлекались из гнезда. Крысят групп МД и МД-семакс с 1 по 14 дни жизни ежедневно изымали из гнезда на 5 час в день. С 15 по 28 дни жизни крысам группы МД-семакс ежедневно интраназально вводили пептид в дозе 50 мкг/кг. Ежедневно регистрировали изменения массы тела крысят. В течение второго месяца жизни оценивали поведение животных в тестах Открытое поле и Приподнятый крестообразный лабиринт. Оценка параметров физического развития животных показала, что МД приводит к снижению массы тела крысят и более позднему открытию глаз. Кроме того, МД приводила к снижению двигательной активности и повышению уровня тревожности. Введение семакса ослабляло или полностью снимало негативные эффекты МД. У животных, перенесших МД, отмечалось изменение уровня BDNF в различных структурах мозга относительно контроля. Введение семакса в ряде случаев компенсировало эффекты МД. Полученные результаты позволяют предположить участие BDNF в реализации отставленных эффектов МД.

Работа поддержана Программой “Ведущие Научные Школы” (НШ 2628.2012.4) и РФФИ (грант № 11-04-01329).

**ОЛИГОПЕПТИДАЗА В ИЗ ПСИХРОФИЛЬНОГО
МИКРООРГАНИЗМА *SERRATIA PROTEAMACULANS* РАСЩЕПЛЯЕТ
ГИСТОНЫ ВЫСШИХ ЭУКАРИОТ**

Смирнова Т.А., Коломийцева Г.Я.

*Институт физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского Московского
Государственного Университета им. М.В.Ломоносова, 119992, Москва,
Воробьевы Горы д.1*

E-mail: smirnova@belozersky.msu.ru

Трипсиноподобная сериновая протеиназа, впервые выделенная из психрофильного микроорганизма *Serratia proteamaculans* в Институте биоорганической химии им. академиком М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН и идентифицированная как олигопептидаза В (OpdB), была испытана нами с гистонами из проростков пшеницы и печени крысы в качестве субстратов. Основанием для постановки такой задачи послужили данные о том, что ферменты этого класса протеиназ могут гидролизовать некоторые глобулярные белки, лишенные жесткой вторичной структуры. Суммарные препараты гистонов получали из клеточных ядер печени крысы и проростков пшеницы экстракцией 0,75М HClO₄ (гистоны H1) или 0,2М H₂SO₄ (кор-гистоны) с последующим осаждением подкисленным ацетоном. Затем электрофорезом в SDS-ПААГ их разделяли на отдельные белки, которые выделяли из геля электроэлюцией и переосаждали. Реакцию гидролиза гистонов OpdB из *S.proteamaculans* проводили в 50 мМ ацетатном буфере, pH 8,0 в объеме реакционной смеси 10-20 мкл 1-6 ч при 25°C и соотношениях E/S = 0,5:1, 1:1, и 2:1. Продукты гидролиза анализировали электрофоретически. Количественную обработку окрашенных гелей проводили по программе GelPro Analyser 1.3. Оказалось, что исследуемая OpdB может расщеплять как растительные, так и животные гистоны H1. При этом скорость расщепления пяти изученных подфракций H1 пшеницы и трех фракций H1 печени крысы была различной. Кинетика расщепления наиболее и наименее высокомолекулярных подфракций H1 пшеницы была изучена более подробно. В то же время две подфракции H1 пшеницы средней молекулярной массы практически не расщеплялись OpdB. В ходе реакций мы не обнаружили в геле сколько-нибудь заметного накопления высокомолекулярных промежуточных продуктов, то есть фермент расщеплял гистоны на мелкие пептиды и нацело. Схожие характеристики были выявлены нами и при гидролизе OpdB гистонов H2 и H3 пшеницы.

Таким образом, бактериальная пептидаза оказалась способной действовать на структурные белки эукариот. Нами получены также предварительные данные о специфическом расщеплении OpdB гистонов H1 в составе хроматина клеточных ядер печени крысы, что делает этот фермент чрезвычайно интересным для структурных исследований хроматина в ядре.

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОТНОШЕНИЯ В РЯДУ АНАЛОГОВ ДИПЕПТИДНОГО МИМЕТИКА МОЗГОВОГО НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА ГСБ-106

Тарасюк А.В., Логвинов И.О., Антипова Т.А., Гудашева Т.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии им. В.В. Закусова» РАМН
125315, г. Москва, Балтийская ул., д. 8

E-mail: tarasiuk86@gmail.com

Ранее нами был получен димерный дипептидный миметик 4-й петли BDNF гексаметилендиамид бис-(*N*-моносукцинил-*L*-серил-*L*-лизина) (ГСБ-106). ГСБ-106 был сконструирован на основе гипотезы о том, что фармакофорным участком нейротрофина является бета-изгиб её наиболее экспонированной наружу шпилькообразной структуры. Из 4-х аминокислотных остатков бета-изгиба 4-й петли Asp⁹³-Ser⁹⁴-Lys⁹⁵-Lys⁹⁶ центральный дипептидный фрагмент был сохранен, остаток Asp⁹³ был заменен на его биоизомер (остаток янтарной кислоты), а Lys⁹⁶ – на амидную группу. Димерная структура BDNF была воспроизведена с помощью гексаметилендиаминового спейсера. ГСБ-106 проявлял нейропротективную активность на нейрональных клеточных культурах в интервале концентраций 10⁻⁵-10⁻⁸М. Для выявления минимального фармакофора ГСБ-106 была изучена зависимость структура-действие в ряду его аналогов и диастереомеров. Был проведен глициновый скан и синтезированы соответствующие соединения: ГТ-105 (замена лизина на глицин), ГТ-107 (замена серина на глицин), ГТ-106Ac (замена моносукцинильного радикала на ацетильный). Была также изучена зависимость активности от конфигурации аминокислотных остатков: ГТ-107D (*D*-энантиомер ГТ-107), ГТ-106DL (замена *L*-серина на *D*-серин), ГТ-106LD (замена *L*-лизина на *D*-лизин). Исследование этих соединений на клеточной культуре HT22 в условиях окислительного стресса показало, что эффект сохранялся при замене серина на глицин (соединение ГТ-107) и остатка янтарной кислоты на остаток уксусной кислоты (ГТ-106Ac). Исчезновение нейропротективного эффекта наблюдалось при замене остатка лизина на глицин (ГТ-105), лизина на *D*-лизин (ГТ-106LD), серина на *D*-серин (ГТ-106DL). Полученные результаты свидетельствуют о ключевой роли бокового радикала лизина у ГСБ-106 в проявлении его нейропротективной активности. *L*-Конфигурация необходима как для остатка лизина, так и для остатка серина. В отсутствии бокового радикала серина конфигурация лизина остается критичной. Таким образом, минимальным фармакофором бета-изгиба 4-й петли BDNF является следующий фрагмент:

HOOC-CH₂-CH₂-CO-NH-(*S*)-C(CH₂OH)-CO-NH-(*S*)-C((CH₂)₄NH₂)-CO-NH-(CH₂)₃-

Полученные результаты могут быть полезны для конструирования новой группы миметиков BDNF.

**КОМПЛЕКСНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПЕПТИДНЫХ ФРАКЦИЙ ЯДА
ПАУКА *TIBELLUS OBLONGUS* НА НЕРВНО-МЫШЕЧНОЕ
СОЕДИНЕНИЕ ЛИЧИНКИ МУХИ**

Федорова И.М.¹, Тихонов Д.Б.¹, Малеева Е.Е.², Миков А.Н.², Козлов С.А.²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова РАН, 194223, С-Петербург, пр. Тореза 44

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемакина и Ю.А. Овчинникова РАН

E-mail: fediri44@mail.ru

Яды пауков представляют собой сложные комбинаторные библиотеки активных пептидов и других соединений, воздействующих на разные системы и молекулярные мишени. В данной работе охарактеризовано действие 26 пептидных фракций яда паука *Tibellus Oblongus* на нервно-мышечное соединение личинки мухи *Calliphora vicina*. Анализ действия пептидов проводился методом двухэлектродной фиксации потенциала. Регистрировались как спонтанные, так и вызванные стимуляцией нерва токи концевой пластинки. Активные фракции яда демонстрировали три качественно различных типа воздействия на синаптическую передачу. Первый тип воздействия характеризовался слабообратимым ингибированием амплитуды вызванных токов и частоты спонтанных токов. Вероятной мишенью такого действия является молекулярная машина экзоцитоза синаптических везикул. Второй тип воздействия состоял в обратимом ингибировании амплитуды вызванных синаптических токов без достоверного влияния на амплитуду и частоту спонтанного освобождения. Наиболее вероятной мишенью этого типа воздействия являются пресинаптические потенциал-управляемые кальциевые каналы. Действительно, в используемом препарате личинки мухи вызванные синаптические ответы зависят от концентрации внеклеточного кальция, а спонтанное освобождение практически кальций-независимо. Из известных токсинов подобное действие характерно для PLTX-II. Третий тип воздействия состоял в том, что при стимуляции нерва возникали не одиночные синаптические ответы, а многокомпонентные (15-30 пиков с интервалом 10-20 мс). Множественные разряды также возникали спонтанно между стимуляциями нерва. Подобное действие могут оказывать активаторы потенциал-управляемых натриевых каналов. Таким образом, пептидные фракции яда паука *Tibellus Oblongus* содержат по крайней мере три типа токсинов, воздействующих на нервную систему. Дальнейшее их изучение может существенно пополнить существующий набор фармакологически активных пептидов.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» 6П;ИШ 6574.2012.4.

УГЛЕВОДСВЯЗЫВАЮЩИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ЛЕКТИНОВ РАСТЕНИЙ ТРИБЫ FABEAE И GALEGEAE

Чубукова О.В., Баймиев Ал.Х., Баймиев Ан.Х.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, 450054, г. Уфа, пр. Октября, 71

E-mail: chubukova@bk.ru

Лектины бобовых растений - секретируемые белки, способные узнавать и избирательно связывать углеводы. По данным литературы, расположенные на поверхности корневых волосков лектины бобовых растений благодаря своим углеводсвязывающим свойствам и субъединичной структуре специфически связываются с экзополисахаридами на поверхности клубеньковых бактерий ризобий, способствуя тем самым прикреплению последних к своему макросимбионту.

Нами были подобраны олигонуклеотидные праймеры к высококонсервативным участкам генов лектинов таким образом, чтобы продукт амплификации включал в себя последовательность, кодирующую углеводсвязывающий домен белка. По данным литературы, указанная углеводсвязывающая последовательность (УСП) определяет специфичность лектина к моносахариду. Таким образом, были амплифицированы, клонированы и секвенированы фрагменты генов лектинов длиной приблизительно 260-280 пар нуклеотидов из бобовых растений представителей рода чина *Lathyrus L.*, относящегося к трибе Fabeae, а также родов астрагал *Astragalus L.*, остролодочник *Oxytropis L.*, относящихся к трибе Galegeae.

У чины весенней *L. vernus*, чины болотной *L. palustris*, чины Гмелина *L. gmelinii* было обнаружено по три, а у астрагала датского *A. danicus*, астрагала эспарцетовидного *A. onobrychis*, астрагала Гельма *A. helmii*, остролодочника крупноцветкового *O. grandiflora* - по два различающихся между собой гена лектина.

Анализ выведенных аминокислотных последовательностей показал, что в основном лектины исследованных растений различаются по длине и аминокислотному составу УСП белка. Причем в нем можно выделить консервативные инвариантные аминокислоты, ответственные за связывание ионов металлов и более переменные аминокислоты, обеспечивающие сахароспецифичность молекулы лектина, что, вероятно, вызывает изменение в их углеводной специфичности и в результате может повлиять на хозяйскую специфичность растения при выборе ризобиального партнера. Данная работа проводилась при финансовой поддержке ФЦП (Госконтракт 16.740.11.0671, Соглашение 8115)

Секция 5

Химия и биология ферментов

ВЛИЯНИЕ ШАПЕРОНОВ НА ТЕПЛОВУЮ АГРЕГАЦИЮ АПОФОСФОРИЛАЗЫ *b* И РЕКОНСТРУКЦИЮ ХОЛОФОРМЫ ФОСФОРИЛАЗЫ *b*

Ерони́на Т.Б., Чеботарева Н.А., Роман С.Г., Курганов Б.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, 119071, Москва, Ленинский пр. 33

E-mail: eronina@inbi.ras.ru

Ферменты, функционирующие с участием коферментов, присутствуют в различных тканях и органах в виде холо- и апоферм. Апоферменты проявляют меньшую термостабильность по сравнению с холоферментами и поэтому более склонны к агрегации.

Изучена кинетика термоагрегации апофосфорилáзы *b* (apoPhb) из скелетных мышц кролика при 37 град. С методом динамического светорассеяния с помощью прибора Photocor Complex с лазером He-Ne (632.8 нм) в качестве источника света. Рассеянный свет регистрировали под углом 90 град. Обнаружено, что, начиная с определенного момента времени ($t \square t^*$), зависимость гидродинамического радиуса (R_h) агрегатов от времени (t) следует степенному закону. Эта стадия процесса агрегации протекает в диффузионно-контролируемом кинетическом режиме, при котором каждое столкновение приводит к слипанию взаимодействующих частиц. На кривой зависимости интенсивности светорассеяния (I) от R_h видны два участка, причем на втором участке I является линейной функцией от R_h . В присутствии краудинг-агентов, триметиламин N-оксида (ТМАО), Фиколла 70000 или Полиэтиленгликоля 20000, скорость агрегации apoPhb увеличивалась. Шапероны, альфа-кристаллин и пролин, препятствуют увеличению скорости агрегации apoPhb, однако антиагрегационная активность альфа-кристаллина и пролина уменьшается в условиях краудинга.

Скорость реконструкции холоформы Phb из апофермента и пиридоксаль-5'-фосфата зависит от температуры и ряда других факторов. Изучено влияние шаперонов, альфа-кристаллина и пролина, на скорость реконструкции холофермента при 37 град. С. Было показано, что в присутствии шаперонов наблюдается небольшое увеличение скорости реконструкции Phb. В условиях краудинга, создаваемого ТМАО или Фиколлом 70000, скорость реконструкции уменьшается. Шапероны, альфа-кристаллин и пролин, противодействуют увеличению скорости агрегации apoPhb в этих условиях.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и грантов РФФИ 11-04-01271-а, 11-04-00932-а.

НОВЫЙ ИНГИБИТОР ТРИПСИНА И ХИМОТРИПСИНА ИЗ КОРНЕВИЩ ЗОЛОТАРНИКА КАНАДСКОГО

Иевлева Е.В.¹, Иванов О.А.², Гвоздева Е.Л.¹, Домаш В.И.², Валуева Т.А.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки *Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, 119071, г. Москва, Ленинский пр., д.33, стр.2*

²*Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф.Купревича НАН Беларуси, г. Минск, ул. Академическая, д.27*

E-mail: ievleva@inbi.ras.ru

Новый ингибитор сериновых протеиназ выделен из корневищ золотарника канадского (*Solidago canadensis* L.), представителя семейства астровых (*Asteraceae*), и очищен до гомогенности. Золотарник канадский последние годы приобрел устойчивую тенденцию к широкому распространению и используется в медицине в качестве антимикробного и диуретического средства.

Выделенный гомогенный белок, обозначенный как ScTI (*Solidago canadensis* Trypsin Inhibitor), подавлял активность трипсина и α -химотрипсина. Он взаимодействовал с этими протеиназами в стехиометрическом соотношении 1:1. Белок ScTI не угнетал активность субтилизина и тромбина, был устойчив как при кислых, так и щелочных значениях pH, но обладал ограниченной термостабильностью. Результаты SDS-ПААГ электрофореза показали, что ScTI имеет молекулярную массу около 16 кДа и преобладает в составе белков осенних корневищ золотарника канадского.

Анализ спектров плавления и кругового дихроизма белка ScTI позволил предположить, что его вторичная структура имеет двухдоменную организацию и содержит значительное количество β -слоев.

Методом MALDI-TOF MS было проведено исследование пептидных фрагментов, полученных в результате гидролиза ScTI трипсином. Анализ их аминокислотных последовательностей с использованием базы данных NCBI и MEROPS позволил установить высокую степень гомологии белка ScTI с белками, принадлежащими к семейству ингибитора Кунитца из сои (подсемейство I3A). Поскольку сведения относительно ингибиторов протеиназ из других видов растений, относящихся к семейству астровых, скудны, и аминокислотные последовательности их неизвестны, наиболее близкими к ScTI оказались последовательности ингибиторов типа Кунитца из растений семейства капустных (*Brassicaceae*) - рапса, капусты огородной, редьки и арабидопсиса.

Работа выполнена в рамках Соглашения о научном сотрудничестве Российской Академии Наук с Национальной Академией Наук Республики Беларусь.

**РЕКОМБИНАНТНЫЙ КАТЕПСИН L ИЗ КИШЕЧНИКА ЛИЧИНКИ
*DERMESTES MACULATUS***

Калиберда Е.Н., Бобик Т.В., Румш Л.Д.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова Российской академии наук 117997, Москва, ул. Миклухо-
Маклая 16/10

E-mail: elena.kaliberda@ibch.ru

Катепсин L из кишечника личинки жука-кожееда *Dermestes maculatus* является термостабильным и ключевым в его пищеварении. Однако содержание катепсина L крайне мало: менее 1% общего белка кишечника. Проведено сравнение известных аминокислотных последовательностей катепсинов L из насекомых рода Coleoptera (жесткокрылые и полужесткокрылые жуки) по программе Clustal W, выявлены закономерности, которые использовали для выделения гена, кодирующего катепсин L *Dermestes maculatus*. Специфические фрагменты кДНК были изолированы методом RACE и клонированы в вектор Derm10/8-1. Фрагмент ДНК, содержащий нуклеотидную последовательность катепсина L, был амплифицирован методом ПЦР с этого вектора, обработан специфическими эндонуклеазами рестрикции и объединен в реакции лигирования с аналогично рестрицированным вектором pET22b.

Для получения рекомбинантного белка катепсина L были созданы три плазмиды, содержащие ген, кодирующий катепсин L: pET22_NHis#15/CatL, pET22_full/CatL и pET22-C/CatL. Экспрессионные векторы pET22_NHis#15/CatL и pET22b-C/CatL содержат ген зрелого катепсина L и различаются присоединением нуклеотидных последовательностей шести гистидинов по N и C-концу гена белка катепсина L, соответственно. Кроме того, pET22b-C/CatL и pET22_full/CatL различаются между собой содержанием генов зрелого фермента и профермента. Для трансфекции этими плазмидами и последующей экспрессии целевого белка катепсин L выбраны клетки *Escherichia coli*: DE3, Rosetta и Origami-лизС. Во всех гетерогенных экспрессионных системах наблюдали повышенное содержание белка в районе 30 кДа и 50 кДа в условиях денатурирующего электрофореза в 12% ПААГ. Однако белки в районе молекулярных масс 30 кДа на зимограмме с желатином не проявляли активности, а в районе 50 кДа – мы отмечали специфическую термостабильную активность (лизис желатина).

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 10-04-0138110-04-01381

МИТОХОНДРИАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛАКТАТА: МЕХАНИЗМ, РЕГУЛЯЦИЯ, ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА ПРИ ТЕМПЕРАТУРНЫХ АДАПТАЦИЯХ РЫБ

Мещерякова О.В., Чурова М.В., Мурзина С.А., Немова Н.Н.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук
185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11*

e-mail: o-mesch@yandex.ru

В настоящее время установлено, что окисление лактата в митохондриях осуществляется митохондриальным лактат-окисляющим комплексом (mitochondrial lactate oxidation complex, mLOC). Впервые существование этого комплекса было доказано для клеток скелетных мышц (Hashimoto et al., 2006) и позднее для клеток мозга (Hashimoto et al., 2008). Комплекс состоит из мембраносвязанной митохондриальной лактатдегидрогеназы (мЛДГ), цитохром *c* оксидазы, белка-транспортера лактата - МСТ1 и шаперона ОХ-47 (CD-147), контролирующего его экспрессию. Митохондриальная ЛДГ сосредоточена на наружной стороне внутренней мембраны митохондрий и ассоциирована с цитохром *c* оксидазой, что обеспечивает сопряжение эндогенной реакции окисления лактата с экзогенным изменением редокс-потенциала в электронтранспортной цепи митохондрий при окислении цитохрома *c*. Считается, что фактором, регулирующим скорость процесса окисления лактата в митохондриях, является уровень молочной кислоты в клетке. Молекула лактата является некой «сигнальной молекулой», которая вызывает адаптивные перестройки метаболизма лактата в митохондриях за счет активации экспрессии генов синтеза МСТ-1, мЛДГ и цитохром *c* оксидазы. Считается, что перемещение лактата в митохондрии и аллостерическая модуляция скорости фосфорилирования – это пример быстрой регуляции метаболизма, в то время как транспорт лактата через клеточную мембрану в другие структуры и увеличение числа межклеточных транспортеров - это длительный адаптационный механизм. Установлено, что температурные адаптации у радужной форели сопровождаются изменением активности и кинетических характеристик изоферментов мЛДГ, активности цитохром *c* оксидазы, а также уровня экспрессии ее субъединицы 4 (*Cox4*), которая имеет сайт связывания с АТФ и является аллостерическим центром регуляции активности фермента. Регуляция активности цитохром *c* оксидазы осуществляется также посредством изменения микровязкости митохондриальных мембран за счет вариаций жирнокислотного состава мембранных липидов.

Работа выполнена при поддержке Гранта Президента РФ НШ–1642.2012.4, Проектов ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 гг.» г.к. 8050 и 14.740.11.1034 и РФФИ проект № 11-04-00167_а.

ИЗУЧЕНИЕ ИНДУКЦИИ ИНГИБИТОРА ТРИПСИНА В ЛИСТЬЯХ И КОРНЯХ ТОМАТОВ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ГАЛЛОВОЙ НЕМАТОДОЙ И ВОЗДЕЙСТВИИ ЖАСМОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Ревина Т.А.¹, Иевлева Е.В.¹, Герасимова Н.В.¹, Удалова Ж.В.²,
Зиновьева С.В.², Валуева Т.А.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, 119071, г. Москва, Ленинский пр., д. 33, стр. 2

²Центр паразитологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, 119071, г. Москва, Ленинский пр., д. 33, стр. 1

E-mail: ievleva@inbi.ras.ru

В процессе эволюции растения выработали защитные механизмы, которые позволяют им успешно противостоять различного рода неблагоприятным воздействиям окружающей среды, среди которых паразитарные инвазии занимают важное место. Среди фитопатогенов нематоды выделяются широтой распространения и трудностью борьбы с ними из-за особенности их морфо-физиологического развития. Ингибиторы протеиназ участвуют в защитной системе растений. Их синтез индуцируется в ответ на механическое повреждение, а также на заражение фитопатогенами.

Цель исследований - изучить процесс накопления ингибиторов трипсина при паразитарной инвазии томатов нематодой, а также влияния на этот процесс жасмоновой кислоты (ЖАК), которая индуцирует иммунный ответ растения. В качестве модели была использована система томаты (*Lycopersicon esculentum* Mill) - галловая нематода (*Meloidogyna incognita*).

Активность ингибиторов трипсина изучали в корнях и листьях томатов, как здоровых растений, так и зараженных галловой нематодой. Было показано, что при заражении их активность увеличивалась как в листьях, так и в корнях. При этом активность ингибиторов в корнях была значительно выше, чем в листьях. Увеличение активности ингибиторов трипсина как в листьях, так и в корнях свидетельствует о том, что иммунный ответ у томатов носил системный характер. Обработка растений томатов ЖАК приводила к увеличению активности ингибиторов трипсина в листьях как здоровых, так и зараженных растений. Обработка ЖАК не вызывала увеличения иммунного ответа в корнях растения.

Ингибитор трипсина из экстрактов листьев и корней томатов был очищен с помощью метода аффинной хроматографии на иммобилизованном трипсине. Изучены его свойства.

РАЗЛИЧИЕ ВКЛАДА ДВУХ α -СПИРАЛИЗОВАННЫХ ДОМЕНОВ В ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АТР-ЗАВИСИМОЙ Lon-ПРОТЕАЗЫ ИЗ *E. COLI*

Андрианова А.Г., Куджаев А.М., Серова О.В., Ротанова Т.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая 16/10

E-mail: tatyana.rotanova@ibch.ru

Гомоолигомерная АТР-зависимая Lon-протеаза *E. coli* (Ec-Lon, представитель подсемейства LonA-протеаз) участвует в контроле качества клеточного протеома путем селективного гидролиза ряда регуляторных белков и деградации аномальных и дефектных полипептидов по уникальному процессивному механизму. Ec-Lon – бифункциональный фермент, протеолитический компонент которого (Р-домен) является серин-лизиновой эндопептидазой, а АТР-азный (AAA^+ -модуль), образованный нуклеотидсвязывающим (NB) и α -спирализованным (Н) доменами, относится к суперсемейству AAA^+ -белков (АТР-аз с альтернативными активностями). Субъединица фермента включает также N-концевой домен и второй α -спирализованный домен, подобный Н-домену, но содержащий протяженный coiled-coil-участок (nH(CC)-домен). В общей структуре Ec-Lon (N-nH(CC)-NB-H-P) NB-домен фланкирован спирализованными доменами, причем, последние содержат в сходных положениях остатки аргинина (в Н-домене – sensor-2 (s-2), важный для гидролиза АТР, а в nH(CC)-домене – ns-2 с неизвестной функцией).

Проведено сравнительное исследование функционирования полноразмерной Ec-Lon и двух ее мутантных форм – Lon-R542A и Lon-R164A, несущих замены остатков s-2 и ns-2, соответственно. Показано, что введенные замены приводят к изменению основных функциональных характеристик фермента: (1) АТР-азная активность мутанта Lon-R164A оказалась пониженной, а у Lon-R542A полностью отсутствовала; (2) Lon-R164A способен к протеолизу только в присутствии комплексов Nu-Mg (по процессивному механизму в случае АТР-Mg и по непроцессивному – в случае AMPPNP-Mg и ADP-Mg); для Lon-R542A, напротив, непроцессивный протеолиз наблюдается исключительно в отсутствие эффекторов, а любой Nu-Mg- комплекс является ингибитором; (3) оба мутанта подвергаются самодеградации, причем Nu-Mg-комплексы в разной степени замедляют автолиз. Выдвинуто предположение о том, что остаток s-2 не только участвует в формировании АТР-азного центра, но и вовлечен в реализацию междоменных контактов в Ec-Lon, а остаток ns-2 важен для корректного сворачивания AAA^+ -модуля фермента.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 11-04-01015).

ЭКСПРЕССИЯ МЕМБРАНОСВЯЗАННОЙ МАТРИКСНОЙ ПРОТЕИНАЗЫ МТ1-ММП И ЕЁ ЭНДОГЕННОГО ИНГИБИТОРА ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМЕ ШЕЙКИ МАТКИ

Рыжакова-Тимошенко О.С., Мехтиев А.Р., Каралкин П.А., Соловьева Н.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» РАМН, 119121, Москва, ул. Погодинская, д.10, корпус Б

E-mail:ryzhakova.olga@list.ru

Процессы инвазии и метастазирования являются главными проявлениями прогрессии опухоли. Ключевая роль в этих процессах принадлежит матриксным металлопротеиназам - ММП, в частности, коллагеназам и желатиназам. Коллагеназа МТ1-ММП не только гидролизует все типы фибриллярных коллагенов, обеспечивая деструкцию тканей, но и в комплексе с тканевым ингибитором металлопротеиназ (ТИМП) ТИМП-2 активирует желатиназу ММП-2, которая гидролизует как коллагенбазальные мембраны, так и фибриллярные коллагены и тем самым способствует развитию процессов инвазии. Цель работы - выяснение особенностей экспрессии матриксных металлопротеиназ (МТ1-ММП и ММП-2) и их тканевого ингибитора (ТИМП-1), как факторов инвазии при плоскоклеточной карциноме шейки матки. Работа проведена на 11 парах образцов карцином, включающих опухоль и прилегающую к опухоли морфологически нормальную ткань, которую использовали в качестве контроля. Исследование экспрессии ММП и их ингибиторов проводили на генном уровне с использованием RT-PCR. Активность ММП-2 исследована методом зимографии. Данные по экспрессии мРНК свидетельствуют о том, что в большинстве образцов (64%) наблюдалась повышенная экспрессия МТ1-ММП, увеличение экспрессии ММП-2 было менее выражено (55%). В случае ингибитора ТИМП-1 в большинстве образцов(65%) наблюдалось снижение экспрессии мРНК, а в некоторых случаях её полное отсутствие. По данным зимографии высокая экспрессия ММП-2 происходит, как в опухоли, так и в прилегающей к опухоли ткани. Полученные данные свидетельствуют о том, что: 1. при плоскоклеточной карциноме шейки матки происходит повышенная экспрессия матриксных металлопротеиназ МТ1-ММП и ММП-2; 2. экспрессия тканевого ингибитора ММП – ТИМП-1 находится в основном на низком уровне или отсутствует; 3. в прилегающей к опухоли морфологически нормальной ткани обнаружена существенная экспрессия МТ1-ММП и ММП-2, которые вносят свой дополнительный вклад в увеличение деструктивного потенциала опухоли; Следовательно, экспрессия как ММП, так и их ингибитора направлена на увеличение деструктивного (инвазивного) потенциала опухоли. Данные важны для понимания роли ММП в развитии многоступенчатого процесса канцерогенеза. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант №12-04-31163.

**АНАЛИЗ И ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКСОВ
ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ПРОЛИНСПЕЦИФИЧНЫХ ПЕПТИДАЗ
ЛИЧИНОК ЖУКОВ-ВРЕДИТЕЛЕЙ ЗЕРНОВЫХ ЗАПАСОВ
TENEBRIO MOLITOR И *TRIBOLIUM CASTANEUM***

Смирнова Ю.А.¹, Гоптарь И.А.², Евсютина Д.В.³, Мартынов А.Г.³,
Лобанова А.О.², Шарикова В.Ф.², Филиппова И.Ю.², Элпидина Е.Н.¹

¹НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ имени
М.В.Ломоносова, Москва, 119991, Ленинские горы, 1-40

²Химический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, 119991,
Ленинские горы, 1-3

³Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ имени
М.В.Ломоносова, Москва, 119991, Ленинские горы, 1-73

E-mail: yulya_82@mail.ru

Представители семейства чернотелок мучные хрущаки *Tenebrio molitor* и *Tribolium castaneum* являются вредителями зерновых запасов и продуктов их переработки. Главными пищевыми белками этих насекомых являются проламины – запасные белки семян злаковых, содержащие до 30% остатков пролина. Ранее в нашей лаборатории в кишечнике личинок большого мучного хрущака *T. molitor* были выявлены две пролинспецифичные пептидазы (PSP), способные гидролизовать связи, образованные остатками пролина. В настоящей работе с использованием биоинформатических подходов впервые был проведен анализ последовательностей комплекса PSP в секвенированном геноме *T. castaneum* и транскриптом кишечника личинок *T. molitor*. Была исследована их доменная архитектура и предсказаны участки в N-концевой части мРНК, ответственные за локализацию пептидаз.

Для выявления активности всего комплекса PSP в кишечниках личинок двух видов насекомых был предложен и синтезирован расширенный набор специфичных хромогенных и флуорогенных пептидных субстратов. Анализ результатов гель-хроматографии экстрактов из кишечника личинок *T. molitor* позволил выявить активности двух новых PSP, предположительно дипептидилпептидазы IV (DPP IV) и пролидазы, в дополнение к ранее описанной пролилолигопептидазе (POP) и ещё одной неидентифицированной активности, которую нам удалось идентифицировать как пролилкарбокисептидазу (PCP). В кишечнике личинок *T. castaneum* впервые были выявлены активности DPP IV, POP и PCP. Проведено сравнение активностей этих пептидаз в кишечниках личинок двух насекомых, а также оригинальным методом тестирования постэлектрофоретической активности с использованием флуорогенных субстратов сравнена их подвижность при нативном электрофорезе в ПААГ.

Работа поддержана грантами РФФИ 12-03-01057-а, 12-04-01562-а и 12-04-31451-мол-а.

**ПОДБОР ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ
ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНОГО
ФЕРМЕНТНОГО МИКРОДИАГНОСТИКУМА**

Тихоненко С.А., Шабарчина Л.И., Сабурова Е.А.

*Учреждение РАН Институт теоретической и экспериментальной
биофизики РАН, 142290 Московской обл.г. Пущино, ул. Институтская 3;*

E-mail: tikhonenkosa@gmail.com

В данной работе была изучена зависимость скорости реакции для инкапсулированных ферментов от концентрации моно- и дивалентных солей. Из полученных данных следует, что в присутствии соли инкапсулированная уреазы и уреазы в комплексе с ПАА отличаются высокой активностью в отличие от полной ее инактивации в бессолеом растворе. Анализ кривых зависимости активности инкапсулированной уреазы от концентрации таких солей, как хлорида натрия и сульфата аммония показывает, что их кривые для разных солей различаются не только по положению максимума, но и по виду функции, описывающей начальный рост активности фермента. Так если для хлорида натрия активность фермента растет монотонно в области до 200 мМ, и может быть описана функцией электростатического экранирования, то для сульфата аммония рост активности происходит скачкообразно, т.е. функция имеет очень резкий подъем при концентрации соли около 2 мМ. Иными словами, у инкапсулированного фермента, как и у полиэлектrolит-ферментного комплекса, рост активности фермента в растворах хлорида натрия и сульфата аммония обусловлен двумя разными процессами и локализован аналогично тому, что наблюдали для свободного фермента в комплексе с полиэлектrolитом. Дальнейшее повышение концентрации соли приводит к падению активности инкапсулированной уреазы, особенно существенное для солей аммония. Так, активность уреазы в капсуле в присутствии хлорида натрия упала на 50% при концентрации соли равной 350 мМ, а для сульфата аммония при еще более низкой концентрации - 39 мМ. Таким образом, для ферментов в полиэлектrolитной микрокапсуле рост активности с увеличением концентрации соли в общем виде повторяет аналогичные зависимости для свободного фермента в присутствии полиэлектrolита. Разница состоит лишь в том, что активность фермента, включенного в микрокапсулу, сохраняется достаточно высокой и скачок активности не так ярко выражен, как для свободного фермента.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости использования микродиагностикума в среде, содержащей соль, однако в ограниченной области ее концентраций – до 200 мМ для NaCl и до 5 мМ для Na₂SO₄. Показано, что увеличение концентрации NaCl до 0,5 М и выше разрушает полиэлектrolитную оболочку и приводит к нежелательному выходу белка из микрокапсулы.

ОСОБЕННОСТИ ПРОТЕОЛИЗА ПРОСТЫХ ГЛИПРОЛИНОВ

Шевченко К.В., Вьюнова Т.В., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук (ИМГ РАН), 123182, г. Москва, пл. Курчатова, 2. Факс (095)196-02-21

E-mail: ATRegister@mail.ru

Известно, что ряд регуляторных глицин-пролинсодержащих пептидов (Pro-Gly-Pro, Pro-Gly, Gly-Pro, Phe-Pro-Gly-Pro) проявляют протекторные и лечебные антидиабетогенные, антитромботические и противовоспалительные свойства.

Этими свойствами обладают пептиды, в составе которых могут быть не только Pro и Gly, но и другие аминокислоты, например, остаток лейцина. При протеолизе этих пептидов образуются также биологически активные более короткие пептиды. Поэтому большой практический интерес представляют исследования кинетики деградации подобных пептидов и определение состава образующихся метаболитов. Полученные данные необходимы для оценки перспективности использования выбранного пептида, как лекарственного препарата.

В работе исследована деградация пептидов Pro-Gly-Pro-Leu и Pro-Gly-Pro-Gly, Pro-Gly-Pro под действием лейцинаминопептидазы (К.Ф. 3.4.11.2, Тип VI), ферментов назальной слизи, мембранных ферментов мозга крыс (МФМК) и ферментов плазмы крови. Установлено, что скорость протеолиза под действием лейцинаминопептидазы уменьшается в ряду Pro-Gly-Pro-Leu > Pro-Gly-Pro-Gly > Pro-Gly-Pro. При анализе состава метаболитов, получаемых при протеолизе пептидов, было установлено, что за 60 мин из Pro-Gly-Pro-Leu образуются Gly-Pro-Leu (57.0%), Pro-Gly-Pro (20.7%) и Gly-Pro (5.4%), из Pro-Gly-Pro-Gly - Pro-Gly-Pro (4.2%) и Gly-Pro (34.6%), а из Pro-Gly-Pro - Gly-Pro (27.0%).

В присутствии ферментов назальной слизи, МФМК и ферментов плазмы крови из Pro-Gly-Pro-Leu образуются три коротких пептида, из Pro-Gly-Pro-Gly – два, из Pro-Gly-Pro – один. Интересно, что во всех случаях образуется Gly-Pro, который обладает выраженным протекторным действием. Наличие в кровотоке Gly-Pro значительно уменьшает количество кровоизлияний в сосудах.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлена высокая устойчивость Pro-Gly-Pro-Leu, Pro-Gly-Pro-Gly и Pro-Gly-Pro к действию перечисленных выше протеаз, за счет чего можно ожидать, что они будут обладать длительным физиологическим действием.

ФАРМАКОКИНЕТИКА И МЕТАБОЛИЗМ PRO-GLY-PRO-LEU В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ МОЗГА КРЫС ПРИ ИНТРАНАЗАЛЬНОМ И ВНУТРИВЕННОМ ВВЕДЕНИИ

Шевченко К.В., Вьюнова Т.В., Андреева Л.А., Шевченко В.П.,
Мясоедов Н.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук (ИМГ РАН), 123182, г. Москва, пл. Курчатова

E-mail: ATRegister@mail.ru

Синтезирован меченный тритием Pro-Gly-Pro-Leu. Исследована кинетика проникновения Pro-Gly-Pro-Leu в мозг крыс при его интраназальном и внутривенном введении. Изучена зависимость содержания тетрапептида, а также содержания его метаболитов (Gly-Pro-Leu, Pro-Gly-Pro, Gly-Pro и Pro-Gly) в гиппокампе, мозжечке и коре мозга крыс от времени введения метки. При интраназальном введении Pro-Gly-Pro-Leu максимальное количество метки, обнаруженное в мозге крысы, составило около 0.01% от заведенного количества. При внутривенном введении Pro-Gly-Pro-Leu максимальное количество метки, обнаруженное в мозге крысы, составило около 0.026% от заведенного количества.

При пересчете распределения Pro-Gly-Pro-Leu и его метаболитов в отделах мозга на грамм ткани были получены следующие результаты.

Максимальная концентрация Pro-Gly-Pro-Leu при внутривенном (интраназальном) введении составила в мозжечке 15.63 (2.37) пмоль/г, в гиппокампе - 18.48 (1.93) пмоль/г, в коре мозга - 2.95 (0.67) пмоль/г. Максимальная концентрация Gly-Pro-Leu при внутривенном (интраназальном) введении составила в мозжечке 19.74 (3.94) пмоль/г, в гиппокампе - 3.46 (5.81) пмоль/г, в коре мозга - 10.70 (1.32) пмоль/г. Максимальная концентрация Pro-Gly-Pro при внутривенном (интраназальном) введении составила в мозжечке 1.18 (1.79) пмоль/г, в гиппокампе - 1.15 (0.79) пмоль/г, в коре мозга - 0.89 (0.84) пмоль/г. Максимальная концентрация Pro-Gly при внутривенном (интраназальном) введении составила в мозжечке 8.27 (10.24) пмоль/г, в гиппокампе - 3.43 (3.92) пмоль/г, в коре мозга - 7.94 (2.70) пмоль/г. Максимальная концентрация Gly-Pro при внутривенном (интраназальном) введении составила в мозжечке 17.76 (16.00) пмоль/г, в гиппокампе - 30.12 (13.44) пмоль/г, в коре мозга - 13.43 (12.13) пмоль/г.

Таким образом, при интраназальном и внутривенном введении Pro-Gly-Pro-Leu в результате его протеолиза образуются разные соотношения его метаболитов, что определит соответствующий спектр клеточных ответов, и, следовательно, физиологическое действие данного пептида.

СЕКЦИЯ 6

**Инновационные лекарственные средства
на основе пептидов и белков.
Механизмы действия**

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОЗИМА НА ОСНОВЕ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО УВЕИТА**

Биневский П.В.¹, Кост О.А.¹, Чеснокова Н.Б.², Никольская И.И.¹, Безнос О.В.²,
Павленко Т.А.², Тихомирова В.Е.¹, Клячко Н.Л.¹, Кабанов А.В.^{1,3}

¹*Химический факультет Московского государственного университета
имени М.В. Ломоносова, Ленинские горы дом 1, строение 3,
ГСП-1, Москва 119991*

²*ФГОУ Московский НИИ глазных болезней имени Гельмгольца
Росмедтехнологий, ул. Садовая-Черногрязская, д. 14/19, Москва 105604*

³*Center for Nanotechnology in Drug Delivery, University of North Carolina,
Chapel Hill 27599-736, USA*

e-mail: binevski@gmail.com

Согласно официальной статистике, воспалительные заболевания глаз являются самой распространенной глазной патологией и в 80% приводят к временной потере работоспособности, а иногда и к потере зрения. В России воспалительными заболеваниями глаз болеют около 16 млн. человек в год. Особое место по тяжести исходов и трудности лечения занимают увеиты – воспалительные процессы, затрагивающие и внешние, и внутренние структуры глаза. Увеиты составляют 5-12% в структуре общей глазной патологии, причем в четверти случаев наступают слепота и слабовидение. При развитии увеита происходит усиление образования свободных радикалов и продуктов окисления липидов практически во всех тканевых структурах глаза, что обосновывает целесообразность применения антиоксидантов, в частности, супероксиддисмутазы, для лечения этого заболевания. Однако способы воздействия на процессы во внутренних структурах глаза, основанные на применении обычных лекарственных средств, имеют относительно малую эффективность вследствие крайне малой проницаемости лекарственных препаратов внутрь глаза.

Мы предложили решить данную проблему путем использования наночастиц в качестве систем доставки лекарственного начала. На модели иммуногенного увеита у кроликов показано, что эффективность лечения супероксиддисмутазой, внедренной в состав наночастиц на основе блок-сополимера метокси-полиэтиленгликоля и поли-L-лизин гидрохлорида (mPEG_{5k}-b-PLKC₅₀), сшитого 3,3'-дитиобис [сульфосукцинимидил пропионатом] – нанозимом – существенно выше, чем у водного раствора фермента. В частности, наблюдалось статистически достоверное снижение таких воспалительных проявлений увеита, как отек радужки, гиперемия конъюнктивы, помутнение хрусталика, фибринозные отложения. Важно, что при лечении нанозимом существенно реже встречаются тяжелые формы увеита. Данные визуальных наблюдений были подтверждены гистологическим исследованием.

Работа выполнена при финансовой поддержке договора 11 G 34.31.0004 от 30 ноября 2010 г.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ ВАЖНЫЕ ПЕПТИДЫ КАК МОДУЛЯТОРЫ АКТИВНОСТИ ГАМК-ЭРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ МОЗГА

Вьюнова Т.В., Шевченко К.В., Шевченко В.П., Андреева Л.А.,
Мясоедов Н.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук (ИМГ РАН), 123182, г. Москва, пл. И.В. Курчатова, 2

E-mail: p2@list.ru

Все более популярным инструментом фармакотерапии при неврозах, депрессиях, тревожных и т.п. состояниях становятся анксиолитики и нейролептики на основе пептидных регуляторов. Как правило, они обладают «мягким» действием и лишены побочных эффектов, характерных для «классических» антидепрессантов, модулирующих активность ГАМК-эргической системы в головном мозге. При этом механизм действия эндогенных нейропептидов и их модифицированных синтетических аналогов до конца не ясен. Предположительно, ключевыми моментами данного молекулярного механизма являются протеолиз пептидов, а также специфические взаимодействия регуляторных молекул на плазматических мембранах клеток-мишеней мозга. В представленной работе дана оценка роли некоторых фармакологически важных пептидов в регуляции формирования специфических лиганд-рецепторных комплексов ГАМК(A) рецепторов с их эндогенными и синтетическими лигандами. В качестве исследуемых нейропептидов были использованы селанк и его короткое производное (тетрапептид RPGR), а также биологически активные аналоги нейротензина. Было показано влияние указанных выше пептидов на основные характеристики специфического связывания радиоактивно меченой [3H]ГАМК на плазматических мембранах коры головного мозга крысы. Кроме того, используя различные комбинации пептидов и известных аллостерических модуляторов ГАМК(A) рецепторов, удалось охарактеризовать комплексные лиганд-рецепторные процессы, происходящие на поверхности клеток-мишеней мозга в присутствии биологически активных пептидов. Предположение о двойном влиянии селанка на ГАМК-эргическую систему (существование отсроченных во времени изменений в характеристиках ГАМК-рецепторной сигнализации) было проверено в экспериментах «ex vivo». Установлено, что введение регуляторных пептидов за несколько часов до выделения мембран клеток мозга вызывает изменения в количестве мест специфического связывания и в степени средства меченой ГАМК к местам связывания на мембранах. Представленное исследование позволяет приоткрыть новые аспекты механизма действия пептидных анксиолитиков и приблизиться к пониманию фундаментальных основ пептидной регуляции в организме. Работа выполнена при финансовой поддержке программы исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» 11-04-12101-офи-м-2011 и гранта РФФИ мол-а 12-04-32275.

РЕКОМБИНАНТНЫЙ ЦИКЛОФИЛИН А ЧЕЛОВЕКА ПРЕПЯТСТВУЕТ АВТОВОЛНОВОМУ ПРОЦЕССУ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

Морозов Ю.А.², Калинина А.А.¹, Хромых Л.М.¹, Казанский Д.Б.¹

¹НИИ канцерогенеза Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский онкологический научный центр имени Н.Н.Блохина» РАМН, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В.Петровского» РАМН, Москва, 119991, Москва, Абрикосовский пер., 2

E-mail: moroz_111@rambler.ru

Цель работы: изучение влияния *in vitro* рекомбинантного человеческого циклофилина А (рчЦфА) на рост фибринового сгустка.

Материалы и методы. Использовали богатую тромбоцитами венозную кровь здоровых доноров, которую делили на две части: контроль и опыт с добавлением рчЦфА в конечной концентрации 10 или 50 мкг/мл и инкубировали при 37°C в течение 30 мин и 3 ч при постоянном перемешивании. В качестве вещества сравнения использовали гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (ГКСФ, 20 мкг/мл). По прошествии времени инкубации богатую тромбоцитами плазму центрифугировали при 13700 об/мин в течение 10 мин и на приборе «Тромбоимиджер-2» регистрировали задержку роста сгустка (мин), начальную (мин) и стационарную (мин) скорости роста сгустка, размер сгустка на 30-й мин роста (мкм), плотность сгустка (усл. ед.).

Результаты. 30-минутная инкубация плазмы с рчЦфА (10 мкг/мл) статистически значимо тормозила параметры пространственной динамики роста сгустка, а также предотвращала развитие спонтанного тромбообразования в системе. Однако через 3 ч различия в показателях тромбодинамики исчезали. Не выявлено дозозависимого эффекта препарата на рост сгустка. ГКСФ не оказывал влияния на величины пространственной динамики роста сгустка.

Выводы. Рекомбинантный человеческий циклофилин А препятствует росту фибринового сгустка, а также, возможно, воздействует на механизм автоволнового процесса свертывания крови.

РОЛЬ HIF1 α В МЕХАНИЗМАХ АНТИГИПОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ДИПЕПТИДНОГО ПРЕПАРАТА НООПЕПТ

Салимгареева М.Х.¹, Вахитова Ю.В.¹, Островская Р.У.², Гудашева Т.А.², Середенин С.Б.²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, 450054, г. Уфа, пр. Октября, 71

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фармакологии им. В.В. Закусова РАМН 125315, г. Москва, Балтийская ул., д.8

E-mail: juvv73@gmail.com

Ноопепт (этиловый эфир N-фенилацетил-L-пролил-глицина, ГВС-111), отобран из серии дипептидных аналогов пирацетама на основании четкого ноотропного эффекта (Seredenin et al., 1995; US patent, № 5.439.930; Gudasheva et al., 1996). Последующее изучение выявило наличие у этого препарата выраженного нейропротективного действия на моделях различных форм ишемии мозга и на ряде клеточных моделей нейрональных культур (PC-12, SH-SY5Y, HT-22). Выявлена способность Ноопепта оказывать нормализующее влияние на патогенетически значимые мишени, специфичные для болезни Альцгеймера (Ostrovskaya et al., 2007, 2011).

Фактор, индуцируемый гипоксией (HIF1 α), опосредует адаптивный ответ клеток на гипоксию посредством контроля экспрессии генов, вовлеченных в процессы ангиогенеза, пролиферации, эритропоэза, метаболизма глюкозы, поддержания pH и миграции. В настоящее время HIF1 α рассматривается в качестве важной мишени для разработки нейропротекторов и противоопухолевых агентов (Corry, 2009).

Стабильную клеточную линию HEK293-HIF1 α -Luc, экспрессирующую репортерную конструкцию с сайтами связывания HIF1 α , использовали для оценки действия Ноопепта (100 нМ, 1 мкМ, 10 мкМ, 100 мкМ) на ДНК-связывающую активность HIF1 α в условиях моделируемой гистотоксической гипоксии. В качестве индуцирующего гипоксию агента применяли CoCl₂ (конечная концентрация 250 мкМ; EC₅₀ 267 мкМ). Как известно, CoCl₂ является ингибитором пролингидроксилазы – фермента, способствующего протеосомной деградации HIF1 α . Показано, что в условиях моделируемой *in vitro* гипоксии инкубация клеток с Ноопептом (36 ч) приводит к подавлению ДНК-связывающей активности HIF1 α (IC₅₀ 24.6 мкМ). Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что одним из возможных механизмов антигипоксического действия Ноопепта является его способность оказывать влияние на компоненты HIF1 α –зависимого сигналинга.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (Соглашение № 8046)

ШКОЛА МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ

**ТЕЗИСЫ
СЕКЦИОННЫХ ДОКЛАДОВ**

СЕКЦИЯ 1

Методы разделения, очистки и анализа
первичной структуры.
Выделение новых природных объектов.
Пептидомика. Протеомика.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПЕПТИДОМОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С СОЦИАЛЬНО-ЗНАЧИМЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Ковальчук С.И.¹, Зиганшин Р.Х.¹, Иванова О.М.¹, Азаркин И.В.¹,
Арапиди Г.П.^{1,2}, Говорун В.М.^{1,3}, Иванов В.Т.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ул. М-Маклая 16/10

² Московский Физико-Технический Институт, 141700, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский переулок, 9

³ Федеральное государственное учреждение Институт физико-химической медицины ФМБА России, 119435, г. Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1А

E-mail: xerx222@gmail.com

Поиск новых высокоспецифичных биомаркеров патологических состояний организма в различных биологических жидкостях, в частности, в сыворотке крови, является одной из основных задач, над которыми работает современная протеомика. Основной упор делается на выявление белков либо уникальных для какой-либо патологии, либо сильно меняющих концентрацию белков. При этом, наряду с протеомом, большой интерес также представляет количественное изучение пептидома, включающего в себя как различные регуляторные пептиды, так и продукты естественной деградации белков (деградом), состав и содержание которых зависят от физиологического состояния организма. В то же время одним из основных ограничений при количественном сравнении пептидомов является низкая производительность основного метода количественной протеомики – хромато-масс-спектрометрического метода мониторинга множественных реакций. Нами были обработаны и проанализированы пептидомы образцов сыворотки крови здоровых доноров, пациентов с колоректальным раком и раком яичников. Для сравнительных количественных экспериментов мы использовали технологию независимого хромато-масс-спектрометрического анализа (DIA) в варианте SWATH. Классическим shot-gun масс-спектрометрическим подходом в наборе образцов сыворотки крови было идентифицировано более 3500 уникальных пептидов, из которых на основании качества спектров фрагментации более 2500 пептидов было отобрано для дальнейшего количественного анализа. Мы показали, что использование ранее разработанных в нашей лаборатории методов обогащения образцов пептидами является достаточно воспроизводимым для проведения достоверной сравнительной оценки представленности отдельных соединений в образцах, полученных от пациентов с различным патофизиологическим статусом. В результате работы был выявлен ряд пептидов, достоверно отличающих патологические состояния от контроля.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и проекта РФФИ 11-04-12072-офи-м-2011.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ СПЕЦИФИЧНЫХ БЕЛКОВ МОРФОГЕННОГО И НЕМОРФОГЕННОГО КАЛЛУСОВ ГРЕЧИХИ ТАТАРСКОЙ

Никонорова Н.А.¹, Хаертдинова Л.Р.¹, Ризванов И.Х.², Румянцева Н.И.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, 420111, г. Казань, ул. Лобачевского, д. 2/31

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической и физической химии Казанского научного центра РАН, 420088, г. Казань, ул. Арбузова, д. 8

E-mail: nikonorova_nat@mail.ru

Длительное культивирование приводит к постепенному снижению морфогенного потенциала клеток, вплоть до полной потери способности к какому-либо типу морфогенеза, что сопровождается изменениями ее морфологии, клеточного метаболизма, а также увеличением хромосомной вариабельности. Переход от эмбриогенных культур к культурам, полностью утратившим способность к формированию целого растения или органа, по-видимому, связан со значительными перестройками клеточного метаболизма и изменением экспрессии генов и белков. Полученные в нашей лаборатории морфогенные каллусы (МК) гречихи татарской сохраняют способность к морфогенезу уже на протяжении семи лет культивирования. Это позволяет использовать морфогенные и полученные из них неморфогенные культуры (НК) для изучения механизмов морфогенеза и его регуляции. Целью данной работы было проведение сравнительного анализа белков морфогенных и неморфогенных каллусов гречихи татарской.

В ходе работы нами было показано, что НК отличался высокими темпами роста уже с первых дней культивирования. В то же время общее содержание белка в НК было в 2-2,5 раза ниже в ходе пассажа по сравнению с МК. Для анализа спектров белков морфогенной и неморфогенной культуры был проведен двумерный гель-электрофорез. Для дальнейшего изучения нами были отобраны 60 белков, которые отличались по уровню экспрессии или были специфичными для каждой культуры. Из них методом MALDI-TOF масс-спектрометрии были идентифицированы 39 белков. Согласно белковой базе знаний Uniprot, идентифицированные белки были разделены на группы согласно их локализации и функции в клетке. Большая часть идентифицированных белков имела пластидную и ядерную локализацию и была связана с метаболизмом белков, регуляцией, защитой и ответными реакциями на биотические и абиотические стрессоры.

ПРОТЕОМНЫЙ ПРОФИЛЬ ЛИЗОСОМ ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА

Шаранова Н.Э.¹, Кирбаева Н.В.¹, Ершова О.М.¹, Перцов С.С.²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение "Научно-исследовательский институт питания" Российской академии медицинских наук, 109240, г. Москва, Устьинский проезд, дом 2/14

²Федеральное государственное бюджетное учреждение "Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К.Анохина" Российской академии медицинских наук, 125315, г.Москва, ул. Балтийская, д. 8

e-mail: sharanova@ion.ru

Экстремальные воздействия оказываемые на организм, могут приводить к нарушению целостной организации функциональных систем метаболического, гомеостатического и поведенческого уровней. В основе таких изменений, в частности, лежат нарушения процессов обмена веществ и энергии. Идентификация протеомных и нутрипротеомных маркеров и разработка на их основе новых индивидуализированных методов повышения устойчивости организма к экстремальным воздействиям с помощью биологически активных природных веществ является актуальной проблемой современной медико-биологической науки.

Работа выполнена на крысах-самцах породы Вистар, которые были разделены на 2 группы: устойчивые и предрасположенные к стрессу особи. Разделение крыс на опытные группы было основано на результатах проведения классического варианта теста «открытое поле». Эмоциональный стресс у крыс был вызван 12 часовой иммобилизацией. Методом двумерного электрофореза были получены протеомные профили лизосомальной фракции клеток печени крыс контрольной группы, группы стресса, а также у животных на 1 и 3 сутки восстановления после стресса. В ходе сравнительного протеомного анализа удалось выявить ряд мажорных белковых пятен, характеризующих стрессорное воздействие и провести их масс-спектрометрическое исследование. Полученные данные позволяют утверждать о наличии протеомных биомаркеров на уровне гидролитической системы лизосом, характеризующих устойчивость организма к воздействию стрессорных факторов

Финансовая поддержка работы осуществлялась ФГБУ "Научно-исследовательский институт питания" Российской академии медицинских наук и ЗАО "Эвалар."

СЕКЦИЯ 2

Методы синтеза, химическая модификация.
Белковая инженерия

**ХИМИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ
МОНО-N-ОКСИСУКЦИНИМИДНЫМИ ЭФИРАМИ
ПОЛИКАРБОКСИЛАТНЫХ МЕТАЛЛОХЕЛАТОВ**

Гарбуз О.С., Свиридов О.В.

*Институт биоорганической химии НАН Беларуси,
220141 г. Минск, ул. Купревича, 5/2, Беларусь*

E-mail: olga_garbuz@iboch.bas-net.by

Разработана методика синтеза моно-N-оксисукцинимидных эфиров комплексонов редкоземельных элементов, получен реагент для введения в структуру белков ионов лантанидов, синтезированы и охарактеризованы в лантанидном иммунофлуориметрическом анализе конъюгаты белков с поликарбоксилатными комплексами европия.

Синтезированный нами реагент для введения в структуру белков комплексонов Eu^{3+} обладает тремя преимуществами по сравнению с предложенными ранее соединениями аналогичного назначения: простота синтеза, присутствие в структуре ионов лантанидов, исключение возможности сшивания полипептидных цепей. Сначала из диангидрида диэтилентриаминпентауксусной кислоты получали аминокпроизводное по следующей схеме. Монозамещенный диамин ацилировали диангидридом, удаляли защитную группу амина и очищали продукт с помощью ионообменной хроматографии. Затем осуществляли хелатирование ионов европия полученным производным диэтилентриаминпентауксусной кислоты и комплекс вводили в реакцию с ди-N-оксисукцинимидным эфиром дикарбоновой кислоты (терефталевой или адипиновой). Для модификации белков использовали полученную реакционную смесь или же предварительно выделяли реагент в виде белого кристаллического вещества. Конъюгаты белков с Eu^{3+} очищали на колонке с Superose 12 в системе проточной эффективной жидкостной хроматографии среднего давления FPLC.

Синтезированные на основе стрептавидина, моноклональных и поликлональных антител конъюгаты характеризовали по степени включения ионов европия и характеристикам связывания в функционализированных лунках полистирольного планшета при лантанидном иммунофлуориметрическом анализе.

Разработанные методики могут быть использованы как для введения в белковую молекулу ионов лантанидов, так и для модификации белков радиоизотопными метками.

СЕКЦИЯ 3

Физико-химические и расчетные
методы исследования.

Пространственная структура

**НОВЫЕ ДАННЫЕ О ЛИГАНДСВЯЗЫВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ
АЛЬФА-1-МИКРОГЛОБУЛИНА ЧЕЛОВЕКА**

Серченя Т.С., Свиридов О.В.

*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, 220141, г. Минск,
ул. Акад. Купревича, 5/2*

E-mail: serchenya@iboch.bas-net.by

В настоящее время интенсивно развиваются структурно-функциональные исследования белков семейства липокалинов. Эти белки характеризуются рядом уникальных свойств и участвуют во многих процессах в организме человека. Низкомолекулярный гликопротеин альфа-1-микроглобулин (А1М), присутствующий в плазме крови и тканях организма человека, относится к липокалинам и является общепризнанным маркером нефрологических заболеваний. Недавно установлена третичная структура рекомбинантной формы А1М методом рентгеноструктурного анализа. Архитектура упаковки белка, консервативная для всех липокалинов, напоминает цилиндр, сложенный из 8 антипараллельных β -тяжей, с центром связывания внутри полости (так называемый «липокалиновый карман»). Функция А1М в организме человека пока не определена, однако описаны его иммуномодулирующие свойства *in vitro*, редуцтазная активность, антиоксидантные свойства и участие в реакции детоксикации продуктов деградации гема.

Ранее нами было установлено новое свойство А1М – нековалентное связывание природных соединений, таких как тироидные и стероидные гормоны. В данной работе мы впервые обнаружили способность этого липокалина взаимодействовать с ксенобиотиками, среди которых широкий ряд пестицидов группы неоникотиноидов. Методами флуоресцентной спектроскопии, кругового дихроизма и компьютерного моделирования установлен факт связывания и определены параметры лиганд-белкового взаимодействия. Показано, что эндогенные и экзогенные лиганды образуют эквивалентные комплексы с белком с константой ассоциации порядка 10^5 – 10^6 М⁻¹. Рассчитанные термодинамические параметры свидетельствуют о том, что основные силы, участвующие в комплексообразовании, имеют гидрофобную и (или) электростатическую природу. Компьютерное моделирование показало, что связывание происходит внутри «липокалинового кармана» белка.

Установление молекулярных параметров взаимодействия А1М с природными лигандами и ксенобиотиками и сравнительный анализ связывающих активностей этого липокалина и альбумина плазмы человека расширяет наши представления о структурных особенностях и функциональных свойствах А1М и вносит вклад в теоретические основы предсказания токсических эффектов ксенобиотиков в организме человека.

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПОЛИ- γ -БЕНЗИЛ-L-ГЛУТАМАТА С
МОЛЕКУЛАМИ ВОДЫ И ДИОКСАНА ПО ДАННЫМ ИК-
СПЕКТРОСКОПИИ И КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИХ РАСЧЕТОВ**

Макшакова О.Н., Файзуллин Д.А.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук,
420111, г. Казань, Лобачевского ул., 2/31*

E-mail: makshakova@gmail.com

Интерес к молекулярным механизмам взаимодействия биополимеров с водно-диоксановыми смесями обусловлен тем, что бинарные растворители используются в качестве среды для неводного биокатализа. В настоящее время предполагается, что низкомолекулярные органические соединения, в частности органические растворители, могут регулировать активность ферментов, в том числе, посредством изменения структуры первого гидратного слоя белка. Белки имеют химически гетерогенную поверхность и взаимодействия белок – вода – органический растворитель являются многофакторными. Гомополипептиды, состоящие из одного типа аминокислотных остатков и обладающие вторичной структурой, позволяют разделить вклады от сложной белковой матрицы, изучить структуру первого сольватного слоя в упрощенных условиях.

В данной работе мы представляем исследование центров связывания молекул воды и диоксана в твердых препаратах спирального полипептида поли- γ -бензил-L-глутамата с применением взаимодополняющих методов ИК-спектроскопии и квантовой химии. Показано, что молекулы воды и диоксана первого сольватного слоя спирального поли- γ -бензил-L-глутамата связываются независимыми центрами. Молекулы воды гидратируют карбонильные группы в составе сложноэфирных фрагментов боковых цепей и карбонильные фрагменты пептидного спирального остова. Молекулы диоксана локализуются в области фенильных колец боковых цепей. При совместной сорбции бинарного растворителя в полипептидной матрице из паров водно-диоксановых смесей, помимо заполнения независимых центров сорбции воды и диоксана, происходит гидратация полярных центров молекул диоксана.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 12-04-31360).

СЕКЦИЯ 4

Биологическая активность.
Взаимосвязь «структура-функция»

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭВОЛЮЦИОННО КОНСЕРВАТИВНОГО БЕЛКА ЯДРЫШКА SURF6 В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Кордюкова М.Ю.¹, Моралева А.А.¹, Ползиков М.А.¹, Шишова К.В.¹,
Лукьянов К.А.¹, Диаз Ж.-Ж.², Зацепина О.В.¹

¹*Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, 117997, Москва*

²*Центр Леона Берарда, ул. Лэнница, 28, 69008, Лион, Франция*

E-mail maria-ufa86@rambler.ru

Белок ядрышка SURF6 относится к эволюционно консервативным и жизненно необходимым белкам эукариот, характер экспрессии которого изменяется при некоторых социально значимых болезнях человека. Однако функциональное значение SURF6 млекопитающих и человека до сих пор практически не изучалось.

Оверэкспрессия SURF6 достоверно повышает содержание внутренних транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2, тогда как при нокдауне SURF6 содержание ITS1 и ITS2 уменьшается. Также оверэкспрессия SURF6 приводит к нарушениям процессинга пре-рРНК, которые выражаются в увеличении числа интермедиатов рРНК, содержащих ITS1 и ITS2. Впервые было показано, что SURF6 участвует в биогенезе рибосом и в процессинге пре-рРНК, влияет на стабилизацию спейсеров ITS1 и ITS2 и предотвращает преждевременное расщепление пре-рРНК.

Мы показали, что SURF6 человека образует РНК-независимый комплекс с факторами процессинга рРНК B23, NOP52 и EBP2, а также некоторыми белками большой и малой субъединиц рибосом. SURF6 полностью колокализуется с белками B23, Nop52, EBP2 *in vivo*. При этом методом FRET показано, что SURF6 прямо взаимодействует с NOP52 и опосредованно – с B23 и EBP2. На основании полученных и литературных данных предложена схема белкового взаимодействия в комплексе, ассоциированном с SURF6.

Принимая во внимание, что многие белки ядрышка участвуют в регуляции клеточной пролиферации, мы изучили влияние оверэкспрессии SURF6 на продолжительность клеточного цикла и его отдельных фаз в клетках мыши и человека. Оверэкспрессия SURF6 приводит к уменьшению продолжительности клеточного цикла и G1 периода и увеличению доли клеток в G2/M периоде. В целом, полученные результаты говорят о том, что SURF6 млекопитающих, подобно дрожжевому гомологу - белку Rrp14, участвует в процессинге пре-рРНК и сборке рибосомных частиц. В отличие от Rrp14, SURF6 млекопитающих принимает также участие в регуляции клеточной пролиферации.

Работа финансировалась за счет средств Министерства образования РФ (соглашение № 8484), РФФИ (грант № 12-04-31348), Гранта президента РФ (МК-6426.2013.4).

**СТРУКТУРНАЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
КОИЛИНА ИЗ РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA***

Макаров В.В.¹, Мукосей И.С.², Калинина Н.О.¹

¹*НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Ленинские горы, д.1, 119234*

²*Факультет биоинформатики и биоинженерии МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Ленинские горы, д.1, 119234*

Тельца Кахаля (ТК) – динамические субъядерные компартменты, физически и функционально связанные с ядрышком. Они участвуют в созревании и сплайсинге малых ядерных рибонуклеопротеинов и вовлечены в их модификацию и сборку через небольшие ТК-специфичные РНК (scaRNA). Коилин – главный структурный белок ТК, необходимый для их формирования и функционирования. Он локализуется преимущественно в ТК, но также обнаруживается и нуклеоплазме. Предсказания, сделанные при помощи сервисов FoldIndex и Disopred, а также анализ физических свойств цельного белка коилина и его делеционных мутантов, показали, что коилин содержит протяженные неупорядоченные регионы и состоит из, как минимум, трех структурных доменов: N-концевого глобулярного домена NOD, внутренне неупорядоченного домена IDD и C-концевого домена STD, содержащего укладку Тюдора и протяженный разупорядоченный C-терминальный участок с сигналами гиперфосфорилирования. Несмотря на низкое сходство последовательностей животные коилины и коилин-подобные белки различных растительных организмов весьма схожи по своей структурной и функциональной организации. Коилин связывает РНК эффективно, неспецифично и содержит 3 РНК-связывающих сайта: два набора положительно заряженных аминокислот в NOD и один в IDD. Высоко консервативный домен NOD, согласно предсказаниям вэб-серверов QUARK и LOMETS, имеет глобулярную структуру и убиквитин-подобную укладку. Методами динамического лазерного светорассеяния и атомно-силовой микроскопии показано, что взаимодействие с РНК индуцирует изменения в структуре NOD с последующей мультимеризацией коилина. Таким образом, вероятно, что одним из факторов, необходимых для формирования корректной структурной основы ТК является взаимодействие между коилином и РНК. Другим важным свойством коилина, является его способность взаимодействовать с большим числом белков-партнеров в процессе выполнения ТК своих функций, выступая в роли белка-адаптера. В составе коилина, внутри неупорядоченного домена IDD, нами были локализованы сайты взаимодействия для ряда растительных (фибриларин) и вирусных (цистеин-богатый белок вируса погремковости табака и белок ТБГ1 гордеивирус) белков. Вероятно, что именно структурная лабильность домена IDD делает возможным для коилина взаимодействие с большим числом белков-партнеров, обеспечивая динамическое привлечение и удаление различных компонентов ТК.

ПОИСК НОВЫХ ЭФФЕКТИВНЫХ БЛОКАТОРОВ РЕЦЕПТОРА NR₃C₄

Брылёв М.И.¹, Раменская Г.В.¹, Лоторев Д.С.¹, Мухачева Е.С.¹, Кузнецова Н.Б.¹, Павлова Л.А.¹, Лизунов А.Ю.², Пелевин Н.А.³, Алифанов В.Л.⁴

¹Государственное бюджетное учреждение высшего профессионального образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, НИИ Фармации, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

²Государственное бюджетное учреждение высшего профессионального образования Московский физико-технический институт (государственный университет), 141700, Московская область, г. Долгопрудный, Институтский пер., д. 9

³Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего профессионального образования Курский государственный университет, 305000, г. Курск, ул. Радищева, д. 33

⁴Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего профессионального образования Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3

E-mail: thebryleff@gmail.com

Рак предстательной железы относится к наиболее часто выявляемым опухолям среди онкологических заболеваний мужчин (Voccardo et al., 1999). Одним из методов лечения рака простаты является проведение гормональной терапии препаратами-антагонистами рецептора NR₃C₄ (Kinkade et al., 2008). Современные методы компьютерного моделирования позволяют провести расчеты, направленные на получение структур соединений – потенциальных блокаторов рецептора NR₃C₄ (Lizunov, 2010). Проведено компьютерное моделирование при помощи программы «Алгокомб». Вследствие малого размера активного сайта рецептора NR₃C₄ к построению компьютерной модели были предложены ацилированные по N-концу ди- и трипептиды, ацилированные амиды и сложные эфиры L- и D-аминокислот. Компьютерное моделирование проведено среди 28000 соединений. Синтезирован 31 образец наиболее перспективных (по расчетным оценкам) соединений. Структуры синтезированных образцов подтверждены методами масс-спектрометрии и ЯМР-спектроскопии ¹H и ¹³C. Проведена оценка аффинности образцов к рецептору NR₃C₄ с применением тест-системы PolarScreen Green (Invitrogen P3018). Определены цитотоксичность и антагонистическое действие веществ на рецептор NR₃C₄ клеток AR-UAS-bla GripTite™ 293. В результате проведенной работы методом компьютерного моделирования рассчитаны структуры и синтезированы образцы новых потенциальных блокаторов рецептора NR₃C₄. Определены аффинность и цитотоксичность синтезированных соединений. Выявлена антагонистическая активность у 2-(1-нафтил)-этилового эфира 1-((4-метилфенил)ацетил)-L-пролина и 2-(1-нафтил)-этилового эфира 1-((4-хлорфенил)ацетил)-L-пролина.

**РОЛЬ ОСТАТКА GLN117 ДЛЯ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ
НИКОТИНОВЫХ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ $\alpha 7$ ТИПА
С ЭПИБАТИДИНОМ**

Мерцалов Г.В., Кудрявцев Д.С., Шелухина И.В., Цетлин В.И.

*Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и
Ю. А. Овчинникова РАН, Россия, Москва, ул. Миклухо-Макляя, 16/10*

E-mail: mertsalovgrigoriy@gmail.com

Нейрональные никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (нАХР), являющиеся лиганд-управляемыми ионными каналами, участвуют во многих процессах высшей нервной деятельности и повсеместно распространены в нервной системе; при нарушениях они оказываются вовлечены в развитие тяжелых нейродегенеративных заболеваний. Типичным представителем этого семейства рецепторов является нАХР $\alpha 7$ типа. Особый интерес представляет гомологичный ему нАХР $\alpha 9$ типа, который взаимодействует с некоторыми лигандами иначе, чем остальные никотиновые рецепторы. Так, например, известные агонисты нАХР никотин и эфирбатин являются для него антагонистами. Данное исследование посвящено изучению молекулярных основ различий функционального ответа $\alpha 9$ и $\alpha 7$ никотиновых рецепторов на эфирбатин. С помощью вычислительных методов были получены модели комплексов $\alpha 7$ и $\alpha 9$ нАХР с эфирбадином, и были выбраны аминокислотные остатки, предположительно важные для их взаимодействия; по этим положениям в последовательность $\alpha 7$ нАХР методом направленного мутагенеза были внесены точечные замены, соответствующие гомологичным остаткам в $\alpha 9$ нАХР. Затем мутантные рецепторы были экспрессированы в ооцитах *Xenopus laevis*, и с помощью электрофизиологических методов исследовались токи через эти рецепторы при добавлении эфирбадина и ацетилхолина. В результате проведенных измерений была обнаружена аминокислотная замена в $\alpha 7$ рецепторе Q117T, которая изменяла его ответ на эфирбатин. Мутантный рецептор не активировался в ответ на аппликацию эфирбадина в концентрациях, достаточных для активации рецептора дикого типа. При этом сохранялся его нормальный ответ на ацетилхолин. Таким образом, измененный рецептор не утратил своей функциональности, но его фармакологические свойства приблизились к $\alpha 9$ типу, так как эфирбатин перестал выступать для него в роли агониста. Это свидетельствует о том, что аминокислотный остаток Gln117, действительно, важен для взаимодействия $\alpha 7$ нАХР с эфирбадином, и его отсутствие у $\alpha 9$ типа может объяснять то, что данный лиганд является для него антагонистом.

**ПРОТИВОПЕПТИДНЫЕ АНТИТЕЛА К СУРВИВИНУ –
ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ БЕЛКА**

Ахидова Е.В.^{1,2}, Калининцева М.В.^{1,2}, Волкова Т.Д.¹, Короев Д.О.¹,
Якупов И.Ю.^{1,2}, Каплун А.П.², Завалишина Л.Э.³, Вольпина О.М.¹

¹ *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10.*

² *Московский государственный университет тонких химических технологий им М.В. Ломоносова, 119571, Москва, пр-т Вернадского, 86.*

³ *Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена, 125284 Москва, 2-й Боткинский пр., д.3*

E-mail: akhidova@gmail.com

Онкофетальный белок сурвивин принимает участие в регуляции митоза и ингибировании апоптоза. Показано, что в клетке он существует в мономерной и димерной формах, функции которых в настоящее время обсуждаются. С целью получения антител, специфичных к мономеру и димеру, произведен теоретический анализ последовательности сурвивина, выбрано и синтезировано 15 функционально важных фрагментов, проведена иммунизация кроликов пептидами и из полученных сывороток выделены противопептидные антитела, специфичность которых к сурвивину подтверждена в условиях ИФА и иммуноблота. Среди девяти антител, направленных на различные участки белка, выявлены антитела, распознающие аминокислотную замену в 129 положении, приводящую по данным литературы к стабилизации либо мономера, либо димера белка, а также антитела, специфичные к мономеру и сурвивин-содержащему комплексу, предположительно димеру белка, — антитела к участку (95-105) и (1-22) соответственно. Показано, что в условиях иммуноцитохимии антитела к участку (1-22) выявляют сурвивин, участвующий в митозе, в то время как антитела к участку (95-105) на всех стадиях клеточного цикла окрашивают как нуклеоплазму, так и цитоплазму. Исследование образцов опухолей рака молочной железы методом иммуноблота показало, что мономер сурвивина присутствует только в образцах ткани из центра опухоли, тогда как димер экспрессируется как в образцах из центра опухоли, так и в тканях вблизи опухоли. Среди 15 образцов опухолей мочевого пузыря мономер сурвивина был выявлен во всех образцах, тогда как димер был обнаружен лишь в отдельных случаях.

Таким образом, полученные нами противопептидные антитела к сурвивину могут служить полезным инструментом для проведения структурно-функциональных исследований, а также имеют перспективу применения в уточняющей диагностике рака для разработки подходов к противоопухолевой терапии.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 12-04-31590 и №13-04-00654.

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА БИОСИНТЕЗА ГЛУТАТИОНА D,L-БУТИОНИН-S,R-СУЛЬФОКСИМИНА НА КАЛЛУСЫ ГРЕЧИХИ ТАТАРСКОЙ С РАЗНОЙ СПОСОБНОСТЬЮ К МОРФОГЕНЕЗУ

Хаертдинова Л.Р., Румянцева Н.И., Костюкова Ю.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, 420111, г. Казань, Лобачевского 2/31

E-mail: nigmatullinalili@mail.ru

Трипептид глутатион (γ -глутамил-цистеинил-глицин) является основным редокс – буфером в клетках животных, присутствуя в двух формах – восстановленной (GSH) и окисленной (GSSG). Функции глутатиона в клетках растений столь же важны и многообразны, как и в клетках животных: глутатион напрямую участвует в защите клеток от окислительного стресса, выполняет функцию субстрата для работы антиоксидантных ферментов, участвует в регуляции клеточного цикла растений и в регуляции морфогенеза как *in vivo*, так и *in vitro*. Мы провели изучение содержания уровня глутатиона и активности глутатионредуктазы, глутатион-S-трансферазы и аскорбатпероксидазы в морфогенном (МК) и неморфогенном (НК) каллусах гречихи татарской в ходе культурального цикла, а также при воздействии d,l-бутионин-s,r-сульфоксимиона (БСО) – ингибитора первого фермента биосинтеза глутатиона - γ -глутамилцистеинсинтазы. Было установлено, что в ходе пассажа культуры незначительно отличались по содержанию общего глутатиона, но содержание GSH было выше в МК, а содержание GSSG – в НК. Соотношение GSH/GSSG в течение всего пассажа МК поддерживалось на достаточно высоком уровне (от 2.8 до 5.5), тогда как в НК оно было значительно ниже и составляло от 1 до 2. В МК активность глутатион-S-трансферазы была выше, чем в НК в 10-20 раз. Можно предположить, что, по крайней мере, отчасти, высокое содержание GSH в МК необходимо для эффективной работы глутатион-S-трансферазы. В НК активность глутатионредуктазы в течение пассажа была выше по сравнению с МК.

При действии БСО снижение содержания GSH в МК было временным (на 6-8 сутки пассажа), а в НК оно снижалось уже через сутки и оставалось ниже, чем в контроле на протяжении всего пассажа. БСО не влиял на содержание GSSG в МК, а в НК вызывал его накопление. Однако цитостатический эффект БСО был более выражен в МК. При действии БСО содержание GSH в МК снижалось очень незначительно, по-видимому, благодаря активации глутатионредуктазы. В НК БСО, наоборот, вызывал снижение активности глутатионредуктазы. Выявлена большая зависимость прохождения клеточного цикла в МК по сравнению с НК от эндогенного уровня глутатиона.

СЕКЦИЯ 5

Химия и биология ферментов

АБЗИМЫ С ОКСИДОРЕДУКТАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ И ИХ ВОЗМОЖНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ

Ермаков Е.А.¹, Смирнова Л.П.², Бунева В.Н.³, Иванова С.А.²,
Алифирова В.М.¹, Невинский Г.А.³

¹Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 634050, г.Томск, Московский тракт, 2

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт психического здоровья» СО РАМН, 634014, г. Томск, ул. Алеутская, 4

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8

E-mail: evgeny_ermakov@mail.ru

Сравнительно недавно были открыты биокатализаторы нового типа – каталитически активные антитела, или абзимы (Paul et al., 1989). Выявлено наличие протеолитической и ДНК-азной активности при аутоиммунных заболеваниях. (Невинский Г.А., Бунева В.Н. 2002-2010 гг). В экспериментах Н. Эрэнэчимэг (2005-2006) были получены сведения о наличии в сыворотке крови здоровых крыс линии Wistar каталитически активных АТ, обладающих оксидоредуктазной активностью. Роль и биологическая функция АТ с оксидоредуктазной активностью у человека в норме и при патологиях ранее не исследовалась.

Целью работы стало изучение оксидоредуктазной активности IgG, выделенных из сыворотки крови здоровых лиц и больных рассеянным склерозом (РС). IgG выделяли с помощью аффинной хроматографии на колонках ProteinG-Sepharose. Определение глутатионпероксидазной (ГП), супероксиддисмутазной (СОД), глутатионтрансферазной (ГТ) и каталазной (КТ) активностей антител проводили спектрофотометрически. Впервые показано, что IgG здоровых лиц и пациентов с РС обладают собственной ГП, СОД, ГТ и КТ активностью. ГП активность IgG у здоровых лиц в среднем составила 16,2 мкМ NADPH/мин/мг белка, у больных РС была в 3 раза ниже (5,78 мкМ NADPH/мин/мг белка). В контрольной группе СОД антител равнялась 8,51 диформаза/мин/мг белка и не отличалась от больных РС (7,91 мкМ диформаза/мин/мг белка). ГТ антител у здоровых лиц характеризуется низкой активностью (0,13 глутатиона/мин/мг белка), у пациентов с РС увеличивалась пятикратно (0,68 мкМ глутатиона/мин/мг белка). КТ активность IgG у здоровых лиц не выявлена, а у пациентов с РС в среднем составила 76,6 мМ H₂O₂/мин/мг белка.

Полученные данные свидетельствуют о возможном участии IgG с оксидоредуктазной активностью в защите организма от окислительного стресса.

ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННАЯ АКТИВНОСТЬ *АРГ-Х* ПРОТЕОЛИЗА ИНТЕРФАЗНОГО ХРОМАТИНА ПРИ ИНДУКЦИИ РОСТОВОГО МОРФОГЕНЕЗА РАСТЕНИЙ

Карпова Л.М., Иванов Р.С., Вафина Г.Х., Иванова Э.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Уфимского научного центра РАН, 450054, г. Уфа, пр. Октября, 69

E-mail: evilina@anrb.ru

Известно (Rill et al., 1982), что в структуре нуклеосомы существует «ядро» аргининбогатых гистонов, неструктурированные аминотерминальные хвосты которых, находятся на поверхности нуклеосомы (Allis et al., 2007). По-видимому, они участвуют в изменении плотности скручивания ДНК на разных уровнях упаковки хроматина. Предполагается, что на разных уровнях интерфазной реорганизации хроматина функционирует *Арг-Х* протеолитическая система, являющаяся молекулярной формой биологического контроля и дающая быстрый физиологический ответ на изменяющиеся условия внешней среды (Иванова, Вафина, 2007). При инициации ростового морфогенеза, под влиянием поступления воды в матричные структуры организма, образуются активированные каналы, по которым начинают активно передаваться регуляторные сигналы (Поликар, 1976). Следует отметить, что хромосомы совместно с микрофиламентами, микротрубочками рассматриваются как линейные структуры, вдоль которых передвигаются сигналы за счет локальной ассоциации и диссоциации молекул (Albrecht-Buelier, 1990). По боковым цепочкам биогетерополимерных структур, погруженных в водную систему, осуществляются метаболические процессы (Поликар, 1976).

Целью данной работы было исследование *Арг-Х* активности в надмолекулярных структурах клеточных ядер (нуклеоплазме, хроматине, ядерном матриксе), как одного из молекулярно-генетических механизмов пространственно-временной (0ч-3ч-6ч-9ч-12ч-15ч-18ч-21ч) реорганизации хроматина.

Показано изменение динамики *Арг-Х* протеолитической активности в биогетерополимерных структурах интерфазных клеточных ядер при индукции ростового морфогенеза зрелых зародышей растений, которое может быть связано как с изменением плотности натяжения и ремоделирования структуры хроматина, так и возможностью образования пула регуляторных пептидов.

МУЛЬТИФЕРМЕНТНЫЙ КОМПЛЕКС МИЦЕЛИАЛЬНОГО ГРИБА *Myceliophthora sp.* ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ХИТОЗАНА

Хасанова Л.М.¹, Ильина А.В.¹, Варламов В.П.¹, Сеницын А.П.²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Центр «Биоинженерия» РАН, 117312 Россия, Москва, пр-т 60-летия Октября, д.7, корп. 1

²Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет им М.В. Ломоносова», 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, МГУ, д.1, стр.3, химический факультет

E-mail: leysan.khasanova@gmail.com

Штамм мицелиального гриба *Myceliophthora sp.* обладает способностью продуцировать комплекс высокоактивных карбогидраз. Результаты исследований показали, что мультиферментный комплекс содержит белки с молекулярной массой (Мм) 43 и 80 кДа (80% и 1% от общего количества секреторного белка соответственно), а также ряд минорных белков.

Были определены свойства некоторых белков (рИ, Мм, субстратная специфичность), входящих в мультиферментный комплекс и определены оптимальные условия проведения деполимеризации высокомолекулярного хитозана (ВМХ), биополимера состоящего из звеньев N-ацетилглюкозамина/N-глюкозамина, с использованием ферментного препарата.

Одно из основных ограничений, по применению растворов ВМХ для биомедицинских целей, связано с их высокой вязкостью (более 1000 сП) и невозможностью работать при нейтральных значениях рН.

Активность ферментного комплекса по отношению к хитину/хитозану определяли по количеству редуцирующих сахаров N-ацетилглюкозамина/D-глюкозамина, образующихся в результате гидролиза. Согласно полученным результатам данный комплекс обладает хитиназной и хитозаназной активностью. Показано, что изменение степени деацетилирования хитозана влияет на проявление хитозанолитической активности ферментного комплекса. В работе проведены исследования и выбраны оптимальные условия (значение рН, температура, фермент-субстратное соотношение и время) проведения процесса деполимеризации ВМХ, в результате которого был получен низкомолекулярный хитозан с вязкостью менее 20 сП, растворимый при нейтральных значениях рН. Таким образом, ферментный комплекс может быть рекомендован к использованию в промышленных масштабах для деполимеризации ВМХ.

СЕКЦИЯ 6

Инновационные лекарственные средства на
основе пептидов и белков.
Механизмы действия

ВЛИЯНИЕ СЕМАКСА НА ПАРАМЕТРЫ ВАРИАбельНОСТИ РИТМА СЕРДЦА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ИНФАРКТА МИОКАРДА У КРЫС

Морозова М.П.¹, Бердалин А.Б.¹, Сергеева А.А.¹, Емельянова А.Г.¹, Ахметшина М.Р.¹, Леднев Е.М.¹, Лукошкова Е.В.²; Гаврилова С.А.¹

¹*Факультет фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, 119192, г. Москва, Ломоносовский пр-т, д.31, корп. 5.*

²*Российский кардиологический научно-производственный комплекс Минздрава России; 121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, д.15 а*

E-mail: mormasha@gmail.com

Ранее нашими исследованиями было показано, что «Семакс» оказывает кардиопротекторное действие на зону условно-интактного миокарда в условиях необратимой ишемии (НИ) и ишемии-реперфузии (ИР) через сдерживание гиперактивации симпатического отдела нервной системы.

Работа направлена на исследование влияния препарата «Семакс», фрагмента АКТГ (4-7) PGP, примененного в острую стадию развития инфаркта миокарда, на симпато-парасимпатический баланс методом оценки variability ритма сердца (ВРС) в покое и после 3 мин холодовой пробы (ХП). Инфаркт миокарда моделировали у крыс необратимой перевязкой или ишемией на 2,5 часа с последующей реперфузией левой коронарной артерии. Семакс вводили в/б в дозе 150 мг/кг через 15 мин и через 2 ч 15 мин от начала коронарной окклюзии. За сутки до и 28 суток спустя после моделирования НИ и ИР регистрировали ЭКГ; расчет и оценку параметров ВРС по 5 минутным фрагментам проводили в программном обеспечении, разработанном Лукошковой Е.В. Дополнительно исследовали интактных крыс (ИК). В норме у ИК в покое средний RR-интервал составил 193 мс (мгновенная ЧСС = 311 уд/мин), стандартное отклонение RR-интервала (RR_Avg) = 7.0 мс (стандартное отклонение ЧСС (HR_Avg) = 12.4 уд/мин), RMSSD = 5.4, pNN5 = 36.3, pNN3 = 58.8. В течение 5 мин после ХП наблюдали снижение RR_Avg на 18% (увеличение HR_Avg на 23%), pNN5 на 58%, pNN3 на 39%. У крыс на 28 сут после моделирования ИР было показано снижение временных параметров парасимпатического вклада в ВРС – pNN5 и pNN3. Масштаб реакции на ХП показателей ВРС у крыс с ИР и НИ отличался от ИК. Применение Семакса сопровождалось сохранением остальных показателей ВРС и их диапазонов реакции на ХП на уровне ИК. У крыс с НИ на фоне терапии Семаксом на 28 сут все параметры ВРС и диапазон реакции на ХП не отличались от ИК.

Таким образом, результаты нашего исследования косвенно поддерживают концепцию кардиопротекторного эффекта пептидного препарата Семакс через сдерживание гиперактивации симпатической нервной системы.

**УЧАСТИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО БЕЛКА
ТЕПЛОВОГО ШОКА HSP70 В ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОМ
ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИИ У КРЫС С ОСТРЫМ ИНФАРКТОМ
МИОКАРДА**

Шайхутдинова Э.Р.¹, Евгеньев М.Б.², Мурашев А.Н.^{1,3}, Остров В.Ф.^{1,3}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Филиал, 142290, Московской обл., Пущино, пр. Науки, 6

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32

³ Пущинский государственный естественно-научный институт, 142290, Московской обл., Пущино, пр. Науки, 3.

E-mail: ostrov-vladimir@yandex.ru

Развитие ишемического повреждения сердца связано с активацией свободнорадикальных процессов, повышением уровня активных форм кислорода (АФК), кальциевой перегрузкой, денатурацией белков, истощением запасов АТФ и глюкозы, накоплением токсических метаболитов и снижением клеточного рН. Эти факторы в той или иной степени влияют на продукцию защитных стресс-белков. Известно, что увеличенная экспрессия человеческого Hsp70 у трансгенных мышей коррелирует с увеличением резистентности клеток к ишемическому стрессу (Plumier J. et al., 1995). Ранее нами были описаны защитные эффекты экзогенного Hsp70 при моделировании патологических состояний у крыс (Vinokurov M., Ostrov V., 2012; Остров В.Ф., 2011).

В настоящей работе описаны защитные свойства экзогенного Hsp70 при моделировании инфаркта миокарда у крыс. Острый инфаркт миокарда моделировали по описанной ранее методике (Schultz J., 1996) на половозрелых самцах крыс Sprague-Dawley массой 350–400 г. под наркозом (уретан, 1,5 г/кг, внутривенно) путем 25-ти минутной окклюзии левой коронарной артерии и последующей 2-х часовой реперфузией. Показано, что внутривенное введение препарата рекомбинантного человеческого Hsp70 в дозе 250 мг/кг за 10 минут до окклюзии левой коронарной артерии приводит к достоверному снижению зоны инфаркта.

Таким образом, показано участие экзогенного Hsp70 в раннем (классическом) прекондиционировании. Механизм подобного действия Hsp70 остается малоизученным, однако, есть основания полагать, что введение Hsp70 приводит к стимулированию адаптационных механизмов организма (Basu S. et al., 2000).

ВЛИЯНИЕ ТОЧКОВЫХ МУТАЦИЙ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ БЕЛКА P53 ПРИ ОСТРЫХ МИЕЛОБЛАСТНЫХ ЛЕЙКОЗАХ

Виноградов А.В., Резайкин А.В., Сергеев А.Г.

ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия» Минздрава России, 620028, г. Екатеринбург, Ретина ул., д.3

E-mail: vinogradov-av@russia.ru

Цель исследования – определить частоту и структуру мутаций белка p53 при острых миелоидных лейкозах (ОМЛ).

Исследованы пробы крови и костного мозга 72 больных острыми миелобластными лейкозами. Для детекции точковых мутаций гена TP53 проводили прямое автоматическое секвенирование экзонов 4-11 по описанной ранее методике (Виноградов А.В. и соавт., 2012). Мутации гена TP53, приводящие к структурным изменениям кодируемого белка, выявлены у 7 пациентов (9,7%), из них в одном случае - замены аминокислот p.98P>S в пролиновом и p.273R>C – в ДНК-связывающем домене белка одновременно. В одном наблюдении определялась фреймшифт-мутация c.645delG, обуславливающая преждевременную терминацию синтеза полипептидной цепи, в остальных – одиночные замены аминокислот в пределах ДНК-связывающего домена (p.126Y>C, p.220Y>C, p.245G>C, p.273R>C, p.281D>Y). При этом, аминокислотные замены p.98P>S, p.126Y>C, p.281D>Y, а также фреймшифт-мутация c.645delG выявлены при ОМЛ впервые.

Анализ биологической значимости указанных мутаций, в том числе влияния аминокислотных замен и фреймшифт-мутации, на структуру и функцию белка p53, проводили с использованием инструментов и протоколов баз данных IARC TP53 Database (R16, November 2012) и The TP53 UMD mutation database in human cancer (2012 release). Определено, что все выявленные мутации приводили к функциональной инактивации синтезируемого белка. При этом, в пробе с двумя мутациями p53 (p.98P>S и p.273R>C) любая из них была достаточной для его инактивации.

Таким образом, аминокислотные замены и преждевременная терминация трансляции белка p53 при ОМЛ могут приводить к его функциональной инактивации, обуславливая тем самым нарушение p53-зависимых механизмов внутриклеточной сигнализации. Следовательно, мутации p53 имеют патогенетическое и клинико-диагностическое значение в онкогенезе ОМЛ.

АДАМАНТИЛ-ПЕПТИДЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ ПРОТИВОВИРУСНЫМ И ВИРУЛИЦИДНЫМ ДЕЙСТВИЕМ В ОТНОШЕНИИ ГЕПАТИТА С

Гараев Т.М., Шибнев В.А., Финогенова М.П., Дерябин П.Г., Мишин Д.В.

ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И.Ивановского» Минздрава России,
123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д.16

e-mail: gtim@fmradio.ru

Около 170 миллионов человек в мире инфицировано вирусом гепатита С (ВГС). Всемирные исследования показали, что для лечения ВГС на сегодня рекомендованы препараты интерферона и рибавирин. Такое лечение в сочетании с высокой стоимостью препаратов и низкой чувствительностью к ним пациентов не всегда дает положительный эффект. Этот факт стимулирует интерес к поиску новых препаратов против ВГС. Цель поиска состоит в том, чтобы найти группы препаратов "прямого действия", которые атакуют различные механизмы жизнедеятельности вируса, и минимизируют риск возникновения резистентности. В белковой оболочке ВГС расположен ионоселективный канал, образованный белком р7. Этот виropорин представляет собой гексамер. Вторичная структура мономера р7 состоит из двух трансмембранных спиралей и короткой петли. р7 ионный канал ВГС представляет новую важную терапевтическую цель. Ранее было определено, что функции ионного канала р7 могут быть заблокированы посредством амантадина. Исходя из этого, можно предположить, что молекула карбоцикла аминокислоты адамантана, обеспеченная дополнительными функционально активными группами, в процессе взаимодействия с трансмембранным доменом гексамера белка р7 способна нарушать процесс транспорта ионов через мембрану вируса и тем самым остановить его воспроизводство. Источником таких функционально активных групп могут быть пептидные остатки, введенные в ремантадин методами пептидного синтеза. В результате проведенных испытаний *in vitro* выявлено, что наибольшую противовирусную активность в отношении вируса гепатита С проявляют адамантил-пептиды, содержащие остатки глицина, пролина и лизина с заблокированным N-концом $-(\text{Boc})_2\text{Lys-Gly-Gly-Rem}$; $(\text{Boc})_2\text{Lys-Gly-Gly-Gly-Rem}$; $(\text{Boc})_2\text{Lys-Gly-Pro-Pro-Rem}$; (Rem остаток 1-(1-адамантил)этиламина). Они обладают избирательной противовирусной и вирулицидной активностью в отношении ВГС, более того, они проявляют значительно меньшую токсичность по сравнению с 1-(1-адамантил)этиламином. Механизм противовирусного действия полученных соединений до конца не ясен, но ионоселективный канал р7 ВГС представляет наиболее вероятную мишень для предлагаемых соединений. Синтетические адамантил-пептиды могут быть применены для создания новых противовирусных препаратов с использованием как в виде индивидуального лекарства, так и в составе комплексной терапии.

**СИНТЕТИЧЕСКИЙ ПЕПТИД ОКТАРФИН (TRLVTLFK)
ИНГИБИРУЕТ АКТИВНОСТЬ ОСИ «ГИПОТАЛАМУС-ГИПОФИЗ-
НАДПОЧЕЧНИКИ»**

Некрасова Ю.Н., Наволоцкая Е.В.

¹Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 142290, Пуцино Мос. обл, Пр-т. Науки, 6

E-mail: nekr-jul@mail.ru

β -Эндорфин – пептидный гормон, наиболее активный и полифункциональный представитель опиоидных пептидов группы эндорфинов. Установлено, что β -эндорфин взаимодействует с опиоидными и неопиоидным (налуксон-нечувствительным) рецепторами. Нам удалось установить, что фрагмент 12-19 молекулы β -эндорфина (TRLVTLFK) обладает таким же сродством к неопиоидному рецептору β -эндорфина, что и исходная молекула гормона. Был синтезирован пептид октарфин, аминокислотная последовательность которого соответствует аминокислотной последовательности данного фрагмента.

Результаты настоящей работы показывают, что меченный тритием ($[^3\text{H}]$ октарфин) связывается с мембранами, выделенными из гипофиза и коры надпочечников крысы. Установлено, что как на поверхности клеток гипофиза, так и на поверхности клеток коры надпочечников имеется один тип высокоаффинных участков связывания октарфина (рецепторов): $K_d = 5,9$ и $35,6$ нМ, соответственно. Специфическое связывание $[^3\text{H}]$ октарфина мембранами, выделенными из гипофиза и коры надпочечников крысы, конкурентно ингибировал немеченый β -эндорфин ($K_i = 5,2 \pm 0,4$ и $32,9 \pm 3,8$ нМ соответственно) и не ингибировали немеченые налуксон, $[\text{Met}^5]$ энкефалин, $[\text{Leu}^5]$ энкефалин, альфа-эндорфин, гамма-эндорфин. Дополнительно было показано, что октарфин в концентрации 1-1000 нМ ингибирует активность аденилатциклазы мембран коры надпочечников крысы. Внутримышечное введение пептида в дозах 10-100 мкг/кг подавляет секрецию кортикостерона из надпочечников в кровяное русло.

Таким образом, неопиоидный рецептор β -эндорфина принимает участие в регуляции функциональной активности гипофиза и коры надпочечников.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 11-04-00208).

ШКОЛА МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ

**ТЕЗИСЫ
СТЕНДОВЫХ ДОКЛАДОВ**

СЕКЦИЯ 1

Методы разделения, очистки и анализа
первичной структуры.
Выделение новых природных объектов.
Пептидомика. Протеомика.

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПЕПТИДНЫХ ФРАГМЕНТОВ БЕЛКОВ
МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА**

Арапиди Г.П.^{1,2}, Зиганшин Р.Х.¹, Ковальчук С.И.¹, Азаркин И.В.¹,
Алексеев Д.Г.³, Говорун В.М.^{1,3}, Иванов В.Т.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю. А.
Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

² Московский физико-технический институт (Государственный
Университет), 141700, г. Долгопрудный, Институтский пер., д.9

³ Научно Исследовательский Институт физико-химической медицины
ФМБА, 119435, г. Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а

E-mail: arapidi@gmail.com

Общее число микроорганизмов, живущих внутри человека, составляет до 100 триллионов клеток, что соответствует десятикратному количеству клеток самого человека. Предполагают, что число уникальных генов всей микробиоты человека в 100 раз превышает число уникальных генов человека (Ley et al., 2006). Большинство микробов живут в кишечнике, оказывая глубокое влияние на физиологию и питание человека, и любые изменения в этом микробном сообществе могут приводить к развитию различных заболеваний (Turnbaugh et al., 2009).

Мы провели LC-MS/MS исследование образцов сыворотки крови пациентов с колоректальным раком (6 образцов), раком яичников (6 образцов) и алкоголизмом (6 образцов), а также группы практически здоровых доноров (6 образцов). Пробоподготовку проводили на основании ранее разработанного нами метода, включающего предварительное фракционирование сыворотки на магнитных микрочастицах со слабо-катионообменной поверхностью и термическую десорбцию пептидно-белковых комплексов. Масс-спектрометрический анализ был проведен на приборе с квадрупольно-времяпролетном масс-анализатором ABSciex TripleTOF 5600+.

В результате анализа масс-спектрометрических данных было идентифицировано около 5000 уникальных пептидных фрагментов белков микробиоты кишечника человека. Для валидации полученных результатов методами биоинформатического анализа были использованы различные программные продукты (PeptideProphet, Sequence Specific Retention Calculator, BLAST). В докладе будут обсуждаться дальнейшие шаги по валидации полученных результатов.

ПОИСК И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЛИГАНДОВ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ Kv1.1 И Kv1.3 В ЯДЕ ПАУКООБРАЗНЫХ

Кузьменков А.И., Кудряшова К.С., Василевский А.А., Королькова Ю.В., Некрасова О.В., Феофанов А.В., Кирпичников М.П., Гришин Е.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва

E-mail: anteka@ya.ru

Потенциал-чувствительные калиевые каналы участвуют в важнейших клеточных процессах, играют роль в патогенезе многих заболеваний и являются мишенями широкого спектра фармацевтических препаратов. Анализ лиганд-рецепторных взаимодействий является актуальной задачей с точки зрения изучения структурно-функциональных особенностей рецепторов и соответствующих лигандов, а также для создания новых биологически активных соединений, способных модулировать активность мембранных белков.

В данной работе описывается эффективная система поиска блокаторов Kv1.1 и Kv1.3, которая основана на экспрессии в мембране бактерий *Escherichia coli* химерных белков KcsA-Kv1.1 и KcsA-Kv1.3 соответственно. Эти гибриды были получены путем встраивания внеклеточных петель соответствующих изоформ калиевых каналов человека в гомологичный участок бактериального канала KcsA. Показано, что гибридные каналы сохраняют способность связывать поровые блокаторы Kv1.1 и Kv1.3. С применением метода конфокальной микроскопии можно проводить количественную оценку образования комплексов между флуоресцентно-мечеными блокаторами (например, хорошо исследованным агитоксином-2, AgTx2) и гибридными каналами.

С помощью этой системы был проведен поиск блокаторов Kv1.1 и Kv1.3 в ядах пауков и скорпионов. Исследовались как цельные яды паукообразных, так и отдельные их компоненты, которые были выделены в индивидуальном виде с помощью хроматографических методов. Оказалось, что яды пауков лишены блокаторов калиевых каналов, способных вытеснять меченый AgTx2 из комплексов с гибридными KcsA-Kv1 и KcsA-Kv1.3. Напротив, в яде скорпионов *Mesobuthus eupeus* и *Orthochirus scrobiculosus* были обнаружены как и уже известные лиганды, так и новые полипептидные блокаторы исследуемых калиевых каналов.

Работа поддержана программой Президиума РАН № 24 и грантами Минобрнауки РФ (соглашения №№ 8063 и 8794).

**ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ИНГИБИТОРОВ
АМИЛОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА
ИЗ ЛИСТЬЕВ КАРТОФЕЛЯ**

Цветков В.О., Шпирная И.А., Умаров И.А., Валиахметова К.И.,
Ибрагимов Р.И.

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
Башкирский государственный университет, 450076, г. Уфа, ул. Валиди, 32*

E-mail: zvetkovvo@rambler.ru

Подавление активности гидролитических ферментов насекомых-вредителей является одним из эффективных способов реализации механизмов защиты у растений. Известно, что в тканях различных видов растений обнаружены ингибиторы пищеварительных ферментов насекомых. Так, описано присутствие в растениях ингибиторов цистеиновых и сериновых протеаз, ингибиторов целлюлаз различной природы, ингибиторов пектиназ. Наибольшее число работ в литературе посвящено описанию активности, состава, свойств ингибиторов протеолитических ферментов, локализованных в запасующих тканях сельскохозяйственных растений (Neiman et al., 2009; Turta et al., 2009; Senthilkumar et al., 2010; Jongsma et al., 2011). Экспериментальные сведения о составе, свойствах, физиологических функциях ингибиторов других гидролаз из растительных тканей (пектиназ, целлюлаз, амилаз) весьма ограничены, данные об ингибиторах амилаз колорадского жука в тканях растений в литературе отсутствуют.

Для получения ингибиторов амилаз из листьев картофеля сорта «Невский» использовали аффинный сорбент с иммобилизованными ферментами, выделенными из кишечника личинок колорадского жука.

Супернатант экстракта листьев картофеля прогревали до 90 °С, центрифугировали и наносили на колонку с иммобилизованной амилазой в ацетатном буфере, элюцию осуществляли изменением рН буферного раствора на 2-3 единицы. В ходе очистки было получено 160 мг белка с суммарной активностью 64 ИЕ, удельная ингибиторная активность повысилась в 10 раз.

Ингибиторы амилаз колорадского жука в листьях характеризуются относительно высокой степенью молекулярной гетерогенности. В результате двумерного электрофореза в 10%-ном SDS-ПААГ было выявлено пять полипептидов с изоэлектрическими точками в диапазоне рН 5-6, молекулярная масса компонентов находится в интервале 15-25 кДа. Значения изоэлектрических точек и молекулярных масс исследуемых молекул соответствуют параметрам описанных в литературе ингибиторов амилаз растительного происхождения, в частности, ингибиторов ферментов насекомых (Alves et al., 2009; Hivrale et al., 2011).

ПОИСК МОДУЛЯТОРОВ РЕЦЕПТОРА TRPA1

Шапранова Ю.А., Андреев Я.А., Мошарова И.В., Королькова Ю.В., Гришин Е.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, дом 16/10

E-mail: yulia.shapranova@gmail.com

Введение. TRPA1 – это ионотропный рецептор, который играет важную роль в развитии воспаления и воспалительной боли. Он экспрессируется в чувствительных нейронах, иннервирующих различные ткани, такие как кожа, эпителий кишечника или лёгких, клетки поджелудочной железы. TRPA1 активируется под действием как экзогенных раздражителей (например, коричневым альдегидом, едкими вещества горчицы и чеснока), так и эндогенных провоспалительных агентов (например, простагландинами или другими производными жирных кислот). Антагонисты TRPA1 значительно снижают болевую гиперчувствительность при астме и остеоартрите. Следовательно, поиск и исследование новых модуляторов TRPA1 представляет большой интерес для лечения воспалительных процессов. Существующие в настоящее время антагонисты TRPA1 являются токсичными органическими соединениями, которые при высоких концентрациях, необходимых для блокирования канала, вызывают значительные побочные эффекты (Bautista et al., 2012).

Методы. Ген TRPA1 был получен при помощи ПЦР из тканей головного мозга крысы и клонирован в экспрессионный вектор pcDNA4/TO, который позволяет проводить индуцируемую экспрессию в клетках млекопитающих. Анализ активности соединений проводился с помощью метода флуоресцентной спектроскопии на линии клеток с индуцированной экспрессией TRPA1. Активные соединения разделяли посредством ОФ-ВЭЖХ и анализировали при помощи MALDI-TOF.

Результаты. Получена стабильная линия клеток CHO с индуцируемой экспрессией гена рецептора TRPA1. На ее основе была разработана тест-система для проведения скрининга биологических образцов (природные яды и отдельные соединения) на активность по отношению к рецептору TRPA1. После ряда хроматографических разделений из ядов актиний *Cnidopus japonicus* и *Urticina grebelnyi* были выделены полипептидные компоненты, модулирующие активность TRPA1.

Обсуждение. Обнаружены новые модуляторы TRPA1, которые оказывают ингибирующее и потенцирующее действие на рецептор.

Выводы. Полипептидные компоненты ядов, модулирующие активность TRPA1, могут стать основой для создания препаратов, регулирующих активности этого рецептора при различных патологических состояниях.

СЕКЦИЯ 2

Методы синтеза,
химическая модификация.
Белковая инженерия

ВКЛЮЧЕНИЕ БЕЛКОВ В ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТНЫЕ МИКРОКАПСУЛЫ МЕТОДАМИ КОПРЕЦИПИТАЦИИ И АДСОРБЦИИ

Кочеткова О.Ю.^{1,2}, Казакова Л.И.¹, Мошков Д.А.¹, Винокуров М.Г.², Шабарчина Л.И.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки *Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, 3.*

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки *Институт биофизики клетки РАН, 142290, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, 3*

E-mail: The-kocha@rambler.ru

Полиэлектролитные микрокапсулы (ПЭМК) представляют собой уникальный инструмент микронного размера для доставки различных биологически активных веществ в клетки и ткани. ПЭМК формируют методом поочередной адсорбции противоположно заряженных полиэлектролитов на коллоидные частицы нано- и микро размеров (ядра) с последующим растворением этих частиц. Ранее с применением метода просвечивающей электронной микроскопии нами было показано, что наслаивание синтетических полиэлектролитов полистиролсульфоната (ПСС) и полиаллиламина (ПАА) на минеральные (CaCO_3) и биоминеральные частицы (CaCO_3 -белок) позволяет получать капсулы с разветвленным интерполиэлектролитным матриксом или заполненные белком, соответственно. Наличие в капсулах интерполиэлектролитного матрикса привело нас к идее о возможности эффективной загрузки капсул, сформированных на CaCO_3 ядрах, заряженными и амфифильными молекулами. Для формирования ПЭМК использовали CaCO_3 ядра и синтетические полиэлектролиты ПСС, ПАА и биodeградебельные - полиаргинин и декстрансульфат. Было произведено сравнение морфологических особенностей строения синтетических и биodeградебельных капсул и установлен характер локализации в них белка после включения его методом адсорбции. Просмотр ультратонких срезов биodeградебельных капсул выявил, что так же, как синтетические, они имеют внутренний интерполиэлектролитный матрикс и оболочку, причем ее формирование наблюдалось уже при 6 полиэлектролитных слоях, а ее толщина составляла 46 ± 3 нм. Адсорбция белка происходила на всех структурных элементах капсул.

Также изучали эффективность включения белков методом адсорбции в полиэлектролитные микрокапсулы, сформированные с применением минеральных ядер. Было установлено, что максимальное количество белка, которое можно включить в капсулу методом адсорбции, напрямую зависит от числа полиэлектролитных слоев, и составляет 4 и 2 пг на капсулу для 6 и 7-слойных капсул соответственно. При увеличении количества полиэлектролитных слоев количество включающегося белка уменьшалось, что связано с увеличением толщины их оболочки.

ПОЛУЧЕНИЕ КОНЬЮГАТОВ ПОЛИСИАЛОВОЙ КИСЛОТЫ И ПЭГ С РЕКОМБИНАНТНЫМ ТИМОЗИНОМ БЕТА-4

Макаров Д.А., Есипов.Р.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10)

E-mail: esipov@ibch.ru

Тимозин β4 (hTβ4) – высококонсервативный пептид, (43 а.о., рI 4.6, N-концевая аминокислотная группа ацетилирована). Этот пептид присутствует практически во всех жидкостях и тканях организма человека и обладает широким спектром биологического действия: стимулирует ангиогенез, способствует регенерации тканей, снижает воспалительную реакцию и блокирует апоптоз. В настоящее время Tβ4 для биологических исследований получают полным химическим синтезом. Альтернативным подходом является биотехнологический способ получения Tβ4 с использованием экспрессии рекомбинантного гена в бактериальных клетках *E. coli*. Биотехнологический способ позволяет получить только неацелированную форму тимозина бета-4 (rhTβ4), которая обладает меньшей активностью, стабильностью и является короткодействующей формой нативного пептида.

С целью улучшения показателей фармакокинетики и фармакодинамики дезацетилтимозина бета-4 было предложено получить конъюгаты полисиаловой кислоты и ПЭГ с рекомбинантным тимозином бета-4 путём химической модификации N-концевой аминокислотной группы пептида альдегидами полисиаловой кислоты (15 кДа) и полиэтиленгликоля (10 кДа). Избирательное химическое ацилирование по N-концевой аминокислотной группе проводили в присутствии апротонного полярного органического растворителя в кислых условиях, препятствующих модификации тимозина бета-4 по аминокислотным группам гистидинов и образованию ди- и три- производных. Проведённые нами эксперименты показали, что присутствие апротонного полярного органического растворителя в смеси уменьшает время протекания реакции и увеличивает выход целевого продукта. Аналоги тимозина бета-4 были выделены с помощью ОФ ВЭЖХ, их структура была подтверждена пептидным картированием методом масс-спектрометрии.

ПОЛУЧЕНИЕ ГОМОДИМЕРНЫХ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ, СОДЕРЖАЩИХ СТРУКТУРНЫЙ МОТИВ - «ЦИСТЕИНОВЫЙ УЗЕЛ»

Ярославцева А.К., Курейкин Б.Б., Степаненко В.Н., Есипов Р.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, 117997, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

E-mail: esipov@mx.ibch.ru

Костный морфогенетический белок 2 (BMP-2), две изоформы сосудистого эндотелиального фактора роста 165 и 165b (VEGF165 и VEGF165b) принадлежат к семейству ростовых факторов и имеют сходную структуру. Эти белки являются гомодимерами, соединенными одной дисульфидной связью (в случае BMP-2) или двумя дисульфидными связями (для VEGF), причем каждый мономер также содержит по три дисульфидные связи, образующие структурный элемент - «цистеиновый узел».

Получение активных форм таких белков в прокариотических системах экспрессии представляет трудную задачу и, как правило, сопряжено с необходимостью введения стадии ренатурации.

Нами были созданы штаммы-продуценты BMP-2, VEGF165 и VEGF165b, при биосинтезе которых два последних белка (VEGF165 и VEGF165b) продуцировались в составе гибрида с последовательностью хитин-связывающего домена (CBD) из *B.circulans*. Использование в качестве штамма-носителя *E.coli* Origami(DE3), созданного для получения *in vivo* белков с дисульфидными связями, оптимизация условий ферментаций позволили нам получить BMP-2, CBD-VEGF165 и CBD-VEGF165b в виде гомодимеров, минуя стадию ренатурации. Были подобраны условия выделения, позволяющие отделить целевые белки от других белков *E.coli*, а затем осуществить отделение олигомерных форм. Для гибридных белков CBD-VEGF165 и CBD-VEGF165b были подобраны условия расщепления TEV-протеазой.

Биологическая активность полученных образцов BMP-2 и VEGF165 была подтверждена на культурах клеток Th-1 (первичные клетки человека, выделенные из зачатка третьего моляра) и SVEC4-10 (мышинные лимфоидные эндотелиальные клетки, иммортализованные вирусом SV40) в тестах *in vitro*.

СЕКЦИЯ 3

Физико-химические и расчетные
методы исследования.

Пространственная структура

СОГЛАСОВАННОСТЬ БЛИЖНИХ И СРЕДНИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ НА ПРИМЕРЕ СКРУЧЕННЫХ β -ШПИЛЕК И 3 β -УГОЛКОВ

Бошкова Е.А., Бражников Е.В., Ефимов А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка РАН, 142290, г. Пущино, Московская обл., ул. Институтская, 4.

E-mail: boshkova.e.a@rambler.ru

Сильно скрученная и изогнутая (coiled-) β -шпилька образует в пространстве двойную спираль правого смысла. Кроме этого, такая шпилька всегда правая, т.е., если смотреть на неё со стороны вогнутой поверхности, то второй тяж по направлению от N- к C-концу располагается справа относительно первого.

В данной работе проведен сравнительный анализ аминокислотных последовательностей сильно скрученных β -шпилек из двух структурных подклассов белков – η г-белков, и белков, содержащих 3 β -уголки. Из Банка белковых данных отобраны 80 скрученных β -шпилек из негомологичных η г-белков, и 35 β -шпилек из белков, содержащих 3 β -уголки. Определены частоты встречаемости аминокислотных остатков на внутренней (вогнутой) и внешней (выпуклой) поверхностях сильно скрученных β -шпилек и 3 β -уголков. Положения на внутренней стороне этих структур заняты преимущественно гидрофобными остатками, а на внешней стороне – гидрофильными. В соответствии с результатами стереохимического анализа (Ефимов, 1991), во внутренних позициях сильно скрученных β -шпилек аномально часто встречаются аминокислотные остатки глицина и аланина. В β -шпильках, входящих в состав η г-белков, глицин встречается во внутренних позициях в 2,5 раза чаще, чем во внешних, а в β -шпильках из 3 β -уголков – в 9,25 раз. Аланина на внутренней поверхности в 2-2,5 раза больше, чем на внешней, для β -шпилек из обоих подклассов белков. Кроме того, во внутренних позициях сильно скрученных β -шпилек никогда не встречается пролин.

Установлено также, что для образования короткой (до 7 аминокислотных остатков) перетяжки необходим хотя бы один аминокислотный остаток в α L- или ϵ -конформации. Как правило, эти позиции заняты глицинами.

Таким образом, для образования сильно скрученной и изогнутой β -шпилек необходимо не только чередование гидрофобных и гидрофильных аминокислотных остатков, но и наличие одного-двух остатков глицина в области перетяжки, а также избыток глицина и аланина в местах наибольшей скрученности тяжей.

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-00150-а.

СТРУКТУРА ОБМЕННЫХ БЛОКОВ ПРИ ДИМЕРИЗАЦИИ БЕЛКОВ

Гордеев А.Б., Ефимов А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка РАН 142290, Московская обл., г. Пущино, Институтская ул., д.4.

E-mail: gordeew@vega.protres.ru

Проблема сворачивания белков представляет собой одну из главных нерешенных задач в области биохимии и молекулярной биологии. Важная информация о сворачивании белков может быть получена из анализа структуры и местоположения обменных блоков при димеризации некоторых белков (имеется в виду так называемый “swapping”). Это и было основной целью данной работы.

Используя Интернет-ресурс 3DSWAP (<http://caps.ncbs.res.in/3dswap/>) (Shameer et al., 2011) и программу молекулярной графики RasMol (Sayle and Milner-White, 1995), мы создали базу данных белков, димеризация которых осуществляется с помощью обменных блоков. Как показывает анализ, при димеризации большинства таких белков происходит обмен одной α -спиралью, одним β -тяжем или нерегулярным участком, которые расположены на концах цепи. Для нашей задачи такие случаи малоинформативны, поэтому мы отобрали 39 негомологичных белков, в которых обменные блоки состоят либо из двух и более элементов вторичной структуры, либо из одного элемента, который «встраивается» во внутреннюю часть соседнего домена. Установлено, что чаще всего такими обменными блоками являются $\beta\beta$ -шпильки и $\alpha\alpha$ -шпильки (11 и 4 случая, соответственно). В ряде случаев обменными блоками являются структурные мотивы с уникальными укладками цепи, такие, например, как 3β -уголок, ф-мотив и $a_3a_2a_1abCd$ -структура (Ефимов, 1997; Ефимов, 2008; Gordeev and Ефимов, 2012). Таким образом, можно предположить, что такие сложные обменные блоки способны свернуться в свои уникальные структуры сами по себе и могут выступать в качестве готовых структурных блоков при сворачивании белков.

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-00150-а.

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ МЕЖДУ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРОЙ И АМИНОКИСЛОТНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬЮ В SH3-ПОДОБНЫХ ДОМЕНАХ

Каргатов А.М., Бражников Е.В., Ефимов А.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка Российской академии наук, 142290, Московская область, г. Пущино, ул. Институтская, 4

E-mail: kargatov@rambler.ru

Поиск и исследование закономерностей, определяющих формирование уникальных укладок полипептидной цепи в белках, является одной из важных задач при исследовании структуры белков.

Цель настоящей работы заключалась в поиске закономерностей, определяющих уникальную укладку SH3-подобных доменов на основе их аминокислотных последовательностей.

Была создана база данных негомологичных белков, содержащих 49 SH3-подобных доменов. Укладку аминокислотных последовательностей проводили как автоматически, с помощью программ выравнивания, так и визуально, с использованием структурных данных.

Основное внимание при анализе уделялось общему размеру домена и длинам его отдельных частей, аминокислотным последовательностям, характерным для составляющих его β -тяжей и перетяжек, и совокупной встречаемости найденных признаков в исследованных доменах.

Выявлен ряд сочетаний по 2-4 остатка разной степени гидрофобности, характерных для каждого из β -тяжей и прилегающих участков в SH3-подобных доменах, составлены шаблоны таких последовательностей. Показана согласованность ближних и дальних взаимодействий на примере SH3-подобных доменов.

Работа может способствовать предсказанию SH3-подобных доменов в белках с неизвестной структурой и конструированию белков, содержащих эти домены.

Работа поддержана грантом РФФИ: № 13-04-00150.

**ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ МОЛЕКУЛ
КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ НА КИСЛОТНЫЙ ГИДРОЛИЗ
ПЕПТИДНОЙ СВЯЗИ**

Макшакова О.Н., Ермакова Е.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, 420111, г. Казань, Лобачевского ул., 2/31

E-mail: makshakova@gmail.com

Стабильность пептидных связей является критическим аспектом для биологической химии и некоторых биомедицинских приложений. Детальное исследование механизмов неферментативного гидролиза необходимо для оценки эффективности работы белков, а также представляет самостоятельный интерес. В данной работе мы исследуем влияние пропионовой кислоты на энергетический активационный барьер кислотного гидролиза модельного соединения, дипептида аланина, при двух механизмах разрыва пептидной связи: согласованного некатализируемого и согласованного катализируемого. Во втором механизме в качестве катализатора выступает молекула кислоты, которая способствует переносу протона с реакционной молекулы воды на атом азота пептидной связи. Результаты квантово-химических расчетов показали, что в обоих случаях величина активационного барьера понижается по сравнению с водными системами. Изменение геометрии переходного состояния в комплексах с молекулой пропионовой кислоты обсуждается в рамках теории донорно-акцепторных взаимодействий. Изучение механизмов регуляции скорости гидролитической реакции карбоновыми кислотами способствует лучшему пониманию действия некоторых протеаз, а также молекулярных механизмов регуляции клеточных процессов метаболитами.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 12-04-31360).

СТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АРХЕЙНОГО РИБОСОМНОГО P1 ВЫСТУПА

Митрошин И.В., Габдулхаков А.Г., Никонов С.В., Гарбер М.Б.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт белка РАН, 142290, г. Пуцино, ул. Институтская, д. 4

E-mail: ivan-mitroshin@vega.protres.ru

Неотъемлемым морфологическим элементом любой рибосомы является подвижный боковой выступ, который вовлечен в образование «сайта связывания ГТФаз» и участвует во взаимодействии рибосомы с факторами трансляции. Несмотря на успех в определении кристаллической структуры рибосом, этот рибосомный выступ не удается визуализировать целиком. В бактериальных рибосомах этот выступ содержит рибосомные белки L10 и L12 и называется L12 выступом. У архей и эукариот в состав аналогичного рибосомного выступа входят белки P0 и P1, и выступ называется P1 (или P) выступом.

В 2011 году нашей группе удалось закристаллизовать и определить структуру архейного рибосомного комплекса N-концевого фрагмента белка P0 (P0NTF) со специфическим фрагментом 23S рРНК с разрешением 3,2 Å. Определение структуры этого комплекса позволило уточнить кристаллографическую модель архейной рибосомы. К сожалению, полученное разрешение структуры комплекса не позволяет детально описать взаимодействия между белком P0 и 23S рРНК.

Известно, что белок L11 связывается с 23S рРНК вблизи участка связывания белка P0, усиливая сродство белка P0 к рРНК в 100 раз. Поэтому тройной комплекс P0NTF-23SpРНК с добавлением белка L11 должен быть более перспективным для получения совершенных кристаллов.

Для получения комплекса P0NTF-L11-23SpРНК смешивались индивидуальные компоненты в молярном соотношении 1 : 1 : 1. Были получены кристаллы РНК-белкового комплекса, пригодные для рентгеноструктурного анализа. От данных кристаллов собран набор дифракционных данных с разрешением 2,9 Å и определена структура комплекса P0NTF-L11-23SpРНК. Полученные данные, позволили четко описать положение фрагмента 23S РНК, а так же первого домена белка P0 и второго домена белка L11. Второй домен белка P0 и первый домен белка L11, по-видимому, довольно подвижны. Качество электронной плотности позволяет только предположительно описать их положение.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и грантом РФФИ (№ 12-04-31349 мол_а).

СЕКЦИЯ 4

Биологическая активность.
Взаимосвязь «структура-функция»

**ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
КОРОТКИХ ИНСЕКТОТОКСИНОВ ИЗ ЯДА СКОРПИОНА
*MESOBUTHUS EUPEUS***

Арзамасов А.А.¹, Сачкова М.Ю.², Ковальчук С.И.², Игнатова А.А.²,
Феофанов А.В.², Василевский А.А.², Гришин Е.В.²

¹ Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, 119991 Москва,
Ленинские горы, 1, стр. 12

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт
биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова РАН, 117997 Москва, ул. Миклухо-Макляя, 16/10

E-mail: modeus-x@hotmail.com

Глиома является наиболее распространенной злокачественной опухолью, развивающейся в центральной нервной системе, она входит в список наиболее смертоносных типов рака. Классическое хирургическое лечение глиомы затруднено в силу специфики расположения, и она довольно устойчива к радио- и химиотерапии. Особый интерес вызывает поиск агентов, селективно связывающихся с клетками глиомы. Одним из таких агентов является полипептид из яда скорпиона *Leiurus quinquestriatus* – хлоротоксин (СТХ). Он обладает мощным паралитическим эффектом на насекомых, но не вызывает такового у млекопитающих.

В рамках данной работы мы осуществили поиск гомологов хлоротоксина в библиотеке кДНК из ядовитых желез скорпиона *Mesobuthus eupeus*, а также в его яде. Нами были обнаружены несколько новых последовательностей, гомологичных СТХ. Дальнейшие исследования мы сосредоточили на одном из вновь обнаруженных полипептидов STL-1 и ранее известном I5A.

Токсины I5A и STL-1 (35-36 остатков, 4 дисульфидные связи) были получены путем химического синтеза, после чего проводилась процедура окисления тиольных групп и очистка с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ. Соответствие структуры химически синтезированных полипептидов нативной доказывали комбинацией нескольких методов: алкилирования сульфгидрильных групп, масс-спектрометрии, обращенно-фазовой ВЭЖХ, спектроскопии кругового дихроизма, тестирования инсектицидной активности. Было показано, что I5A и STL-1 вызывают паралич у насекомых аналогично СТХ. Данные токсины не оказывают цитотоксического и цитостатического действия на различные культуры клеток млекопитающих. Для выявления возможного противоракового эффекта было проведено тестирование ингибирующей активности I5A и STL-1 на подвижность линии клеток глиомы.

Работа поддержана грантами РФФИ (№№ 12-04-01813 и 12-04-33151) и Минобрнауки РФ (соглашение № 8794), стипендией Президента РФ и программой МКБ Президиума РАН.

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА АНТИАГРЕГАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ШАПЕРОНОВ БЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ И ХИМИЧЕСКИХ ШАПЕРОНОВ

Борзова В.А.¹, Маркосян К.А.¹, Кара Д.А.², Чеботарева Н.А.¹,
Муранов К.О.³, Полянский Н.Б.³, Макеева В.Ф.¹, Курганов Б.И.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, 119071, г. Москва, Ленинский пр., 33

²Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, 1

³Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, г. Москва, ул. Косыгина, 4

E-mail: squsiebox@gmail.com

Разработаны новые подходы для количественной оценки антиагрегационной активности шаперонов белковой природы (малых белков теплового шока) и так называемых «химических шаперонов», включающих аминокислоты и их производные. Для демонстрации применимости разработанных подходов была предложена тест-система, основанная на агрегации бычьего сывороточного альбумина, индуцируемой дитиотреитолом (рН 7,0; 45 град. С). Кинетику агрегации регистрировали по приросту интенсивности светорассеяния (I) при длине волны 632,8 нм. Для оценки начальной скорости агрегации использовали параметр K_{agg} , рассчитываемый при помощи следующих уравнений: $I = I_0 + K_{agg}(t - t_0)^2$ или $dI/dt = 2K_{agg}(t - t_0)$, где I_0 – значение I при $t = 0$ и t_0 – длительность лаг-периода. Сопоставление антиагрегационной активности интактного альфа-кристаллина из хрусталика глаза быка и альфа-кристаллина, сшитого глутаровым альдегидом, проводили в координатах $\{K_{agg}; [\text{альфа-кристаллин}]\}$. Для сшитого альфа-кристаллина указанная зависимость является линейной. В то же время для интактного альфа-кристаллина такая зависимость включает линейный участок, сменяющийся более пологим участком при относительно высоких концентрациях альфа-кристаллина. Предполагается, что подобный характер зависимости K_{agg} от концентрации альфа-кристаллина обусловлен динамическим характером четвертичной структуры альфа-кристаллина. Для количественной оценки антиагрегационной активности химических шаперонов (пролина, аргинина, аргининамида, этилового эфира аргинина) использовали уравнение Хилла, содержащее параметр $[L]_{0,5}$, представляющий собой концентрацию химического шаперона, при которой начальная скорость агрегации снижается в 2 раза. Параметр $[L]_{0,5}$ характеризует сродство химического шаперона к белковому субстрату.

Работа выполнена при финансовой поддержке программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и грантов РФФИ 11-0400932-а, 11-0401271-а, 12-04-00545-а.

**МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ СЕРИНОВЫХ
ПРОТЕАЗ АУТОИНДУКТОРАМИ АНАБИОЗА**

Валиуллина Ю.А., Ермакова Е.А., Захарченко Н.Л., Зуев Ю.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, 420111, г. Казань, ул. Лобачевского 2/31

E-mail: valiullina@mail.knc.ru

Одной из групп биологически активных веществ, способных оказывать влияние на активность ферментов, являются микробные низкомолекулярные ауторегуляторы (факторы d1- аутоиндукторы анабиоза) - алкилоксибензолы (АОБ). Исследовано влияние индукторов анабиоза – ряда гомологов АОБ С7, С12 и С18, различающиеся длиной алкильного радикала, на структуру и каталитическую активность сериновых протеаз - трипсина и α -химотрипсина. Показано, что все использованные гомологи ингибируют каталитическую активность трипсина и α -химотрипсина. Анализ спектров триптофановой флуоресценции белков показал, что изменение активности при добавлении АОБ не связано с нарушением белковой структуры. Методом молекулярного докинга показано, что молекулы АОБ блокируют различные участки поверхности белков, при этом наиболее энергетически выгодные комплексы с лигандом образуются с участием аминокислотных остатков активного центра ферментов. Наиболее вероятный механизм действия алкилоксибензолов на активность сериновых протеаз заключается в образовании устойчивых комплексов АОБ с ферментом, вследствие чего, снижается активность ферментов. Однако, вследствие различий в локализации различных гомологов ряда АОБ на поверхности белка, изменения активности индивидуальны для каждого исследуемого соединения. Ингибирование ферментативной реакции при добавлении АОБ не приводит к нарушению белковой структуры под действием алкилоксибензолов, а определяется только «блокировкой» доступа субстрата к активному центру фермента со стороны молекул АОБ.

РЕГУЛЯЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ ЦИТОКИНОВ ПЕПТИДНЫМИ ФРАГМЕНТАМИ ГАММА-ИНТЕРФЕРОНА

Ермола Е.М.¹, Мартинович В.П.¹, Голубович В.П.¹, Янченко В.В.²,
Языкова Е.В.², Янченко А.В.²

¹*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Беларусь, 220141, Минск, ул. Купчевича, 5/2*

²*Витебский государственный медицинский университет, Беларусь, 220023, Витебск, пр. Фрунзе, 27*

E-mail: ermola.e@tut.by

Патологическая аллергизация организма связана с дисбалансом цитокинов, в частности, с относительным избытком γ -интерферона (IFNG) и относительным недостатком трансформирующего фактора роста β -1 (TGF- β 1) (Mayer et al, 2004). Так как TGF- β 1 стимулирует синтез В-лимфоцитами иммуноглобулина А, ключевого иммуноглобулина, блокирующего аллергены, попадающие на слизистые, коррекция содержания этих цитокинов может найти применение при лечении аллергопатологий. Мы исследовали влияние на содержание цитокинов в плазме низкомолекулярных пептидных фрагментов IFNG - последовательности 109-114 (KKKRDD) и 105-114 (FNSNKKKRDD), исходя из предположения, что эти положительно заряженные пептиды могут образоваться при протеолизе IFNG и, проникнув из межклеточной жидкости или плазмы через клеточную мембрану обратно в клетку, по механизму обратной связи способны ингибировать синтез цитокина. Пептиды получали классическими методами пептидного синтеза, чистота и структура синтезированных соединений подтверждены методами масс-спектрометрии, аминокислотного анализа, ТСХ, ВЭЖХ. В качестве пептида сравнения использовали синтетический октапептид p135-142Fc α RI (WRNWNVYK), аналог активного центра высокоаффинного рецептора иммуноглобулина Е (Martinovich et al, 2012). Биологические исследования пептидов p109-114IFNG и p105-114IFNG проводили на клетках крови с использованием иммуноферментных тест-систем для определения γ -интерферона (Вектор-Бест, Россия, № А-8752) и трансформирующего ростового фактора бета 1 (DRG Diagnostics, США, TGF- β 1 ELISA, № EIA-1864). При инкубации клеток крови с пептидами наблюдалось статистически значимое понижение концентрации IFNG в культуре клеток цельной крови (в среднем на 47% при концентрации пептидов 0,65 мкг/мл и на 40% при концентрации 6,5 мкг/мл) и статистически значимое увеличение концентрации TGF- β 1 (в среднем в 2,5 раза после инкубации с пептидами в концентрации 6,5 мкг/мл и в 4 раза - при концентрации 0,65 мкг/мл). Т.о., угнетая синтез γ -интерферона, можно увеличивать синтез трансформирующего фактора роста бета-1 и в перспективе влиять на течение аллергических болезней.

СПЕКТРЫ ПЕПТИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ В ИНКУБАЦИОННУЮ СРЕДУ ЭРИТРОЦИТАМИ ЧЕЛОВЕКА В УСЛОВИЯХ ГИПЕРГЛИКЕМИИ *IN VIVO* И *IN VITRO*

Исаева А.В.¹, Васильева С.Г.¹, Кураева Ю.Г.¹, Кленова Н.А.¹, Лебедева Е.А.²

¹Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный университет», 443011, Самара, ул. Акад. Павлова, 1

²Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет», 443099, Самара, ул. Чапаевская, 89

e-mail: antima2008@rambler.ru

Проведено изучение общего количества и спектра пептидных соединений, поступающих в инкубационную среду Рингера-Локка из эритроцитов человека донорской крови после 60-ти минутной инкубации их при 37С° в условиях содержания глюкозы 5 мМ/л (нормогликемия) и 10 мМ/л (гипергликемия), а также при инкубации в условиях нормогликемии эритроцитов пациентов с сахарным диабетом I типа. Общее содержание пептидов в инкубационной среде доноров в условиях гипергликемии выше на 19%, у пациентов с сахарным диабетом I типа общее содержание пептидов в инкубационной среде достоверно не отличалось от условий нормогликемии доноров, однако внутри эритроцитов было обнаружено превышение количества пептидов более, чем в 2,5 раза. Изучение спектра пептидных соединений методом капиллярного электрофореза выявило изменение спектра пептидов, выделяемых эритроцитами человека в инкубационную среду, как в условиях гипергликемии, так и у пациентов с сахарным диабетом I типа. Обнаружено сходство электрофореграмм инкубационной среды донорских эритроцитов, находящихся в условиях гипергликемии с электрофореграммами эритроцитов пациентов с сахарным диабетом I типа, инкубированных в условиях нормогликемии, которое выражается в появлении новых пиков, выходящих на 3-6 минутах элюирования. Полученные данные позволяют предположить, что гликозилирование мембранных белков и гемоглобина ускоряет процесс их протеолитической деградации.

Работа осуществляется при финансовой поддержке проекта РФФИ 13-03-97013 р_Поволжье_a.

СТРУКТУРА, ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ И АКТИВНОСТЬ ПЕПТИДНЫХ ИНГИБИТОРОВ КИНАЗЫ ЛЕГКИХ ЦЕПЕЙ МИОЗИНА

Казакова О.А., Азьмуко А.А., Сидорова М.В., Молокоедов А.С., Беспалова Ж.Д., Хапчаев А.Ю., Бушуев В.Н., Ширинский В.П.

ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава РФ, 121552, Москва, 3-я Черепковская ул., 15а

E-mail: peptide1@cardio.ru

Киназа легких цепей миозина (КЛЦМ) является одним из ключевых регуляторов сократительной активности клеток, в том числе и эндотелиальных клеток сосудов. Ингибирование активности КЛЦМ в сосудистом эндотелии рассматривается, как возможный новый подход к противоотечной терапии. В последние годы разрабатываются пептидные ингибиторы КЛЦМ, созданные на основе последовательности её автоингибиторного участка; одним из них является нонапептид – *L*-ПИК (H-RKKYKYRRK-NH₂) (Lukas et al., 1999), способный проникать через плазматическую мембрану и влиять на эндотелиальную проницаемость *in vitro*. Однако низкая устойчивость *L*-ПИК в биологических средах ограничивает его практическое применение. Настоящая работа является продолжением наших исследований (Секридова и соавт., 2010) по поиску протеолитически стабильных пептидных ингибиторов КЛЦМ. Твердофазным методом с применением (Fmoc-технологии) были получены аналоги *L*-ПИК: H-(*N^αMe*)Arg-Lys-Lys-Tyr-Lys-Tyr-Arg-*D*-Arg-Lys-NH₂ (ПИК2); H-(*N^α-Me*)Arg-Lys-Lys-Tyr-Lys-Tyr-Arg-Arg-Lys-*Pro-Gly-Pro*-OH (ПИК3); H-Arg(*NO*₂)-Lys-Lys-Tyr-Lys-Tyr-Arg-Arg-Lys-NH₂ (ПИК4); H-Argψ[CH₂NH]-Lys-Lys-Tyr-Lys-Tyr-Arg-*D*-Arg-Lys-NH₂ (ПИК5); H-Argψ[CH₂NH]-Lys-Lys-Tyr-Lys-Tyr-Arg-Arg-Lys-*Pro-Gly-Pro*-OH (ПИК6); *cyclo*[-Arg-Lys-Lys-Tyr-Lys-Tyr-Arg-Arg-Lys-] (*c*-ПИК). (Курсивом выделены модификации, введенные для увеличения протеолитической стабильности). С помощью ¹H-ЯМР-спектроскопии была проведена сравнительная оценка устойчивости этих пептидов в плазме крови человека и изучены пути их распада под действием ферментов плазмы. Согласно полученным результатам, относительная протеолитическая устойчивость аналогов *L*-ПИК падает в ряду ПИК2 = ПИК5 > ПИК3 = ПИК6 > ПИК4 > *L*-ПИК. Активность пептидов оценивали *in vitro* по ингибированию ими реакции фосфорилирования легких цепей миозина под действием КЛЦМ. Ряд ингибиторной активности пептидов выглядит следующим образом: ПИК2 = ПИК3 = *L*-ПИК ≥ ПИК5 > ПИК6 > ПИК4 > *c*-ПИК.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки (государственный контракт № 16.512.12.2003).

**БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПЕПТИДНЫЕ КОМПОНЕНТЫ
ГЕМОЛИМФЫ ЛИЧИНОК *GALLERIA MELLONELLA***

Костина Д.А.¹, Федоткина О.С.¹, Кленова Н.А.¹, Пурыгин П.П.¹,
Буряк А.К.², Литвинова Е.Г.³

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный университет», 443011, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физической химии и электрохимии им. Фрумкина, РАН, Москва 119071, Ленинский просп., д. 31, корп. 4

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт экспериментальной и теоретической биофизики, РАН, г. Пуцино, Московская обл., 142290, ул. Институтская, д. 3

E-mail: din.kostina@yandex.ru

Изучены биологически активные пептидные компоненты гемолимфы личинок *Galleria mellonella* в условиях их предварительной специфической и неспецифической иммунизации, экстракции этиловым спиртом, выделения и изучения методами электрофореза, ионообменной и высокоэффективной жидкостной хроматографии и МАЛДИ-анализа, определения гемолитической и антибактериальной активности. Спиртовые экстракты личинок восковой моли не оказывают гемолитического действия на эритроциты человека и обладают защитным действием в условиях окислительного стресса *in vitro*; показано их бактериостатическое действия по отношению к *E. coli*. После специфической иммунизации личинок *Pseudomonas aeruginosa* полученная гемолимфа была разделена методом ионообменной хроматографии на 17 фракций, из которых 5 обладали выраженной антибактериальной активностью. Гель-электрофорез двух фракций гемолимфы с наибольшей активностью и масс-спектрометрический анализ электрофоретических элюатов показал наличие белкового компонента с массой 5627-5633 Да. Иммунизация личинок восковой моли смесью культур *E. coli* и *Bacillus cereus* сопровождалась увеличением антибактериальной активности и повышением содержания и разнообразия пептидных компонентов в гемолимфе. МАЛДИ-анализ выявил наличие пептидных соединений с массой от 875 до 18000 Да. Среди них идентифицированы известные и неизвестные пептиды. Часть из них обнаруживается в условиях специфической иммунизации личинок ацетон-1,1-диметилгидразоном. Пептидные компоненты гемолимфы личинок *Galleria mellonella* не только угнетают рост *E. coli*, но и оказывают воздействие на скорость метаболических процессов, что выражается в изменении ферментативной активности клеток *E. coli*. Антибактериальные пептиды личинок *Galleria mellonella* действуют как по общеизвестному механизму цекропин-подобных белков, так и по механизму действия на клеточный метаболизм.

Работа выполнена при финансовой поддержке федеральной программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (проект №02.740.11.0312).

ЭНДОГЕННЫЙ ЭФФЕКТОР АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА В СОСТАВЕ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Крюкова О.В.¹, Данилов С.М.², Кост О.А.¹

¹Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования “Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова”, Москва; ² University of Illinois at Chicago

E-mail: so.blonde@gmail.com

Определение активности ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) в сыворотке крови применяется в медицинской диагностике различных заболеваний. Ранее в крови млекопитающих были обнаружены эндогенные ингибиторы АПФ пептидной природы и разной длины. Кроме того, в крови человека был найден белок с мол. массой 14 кДа, способный связываться с АПФ, но не влияющий на его активность. Целью данного исследования был поиск эффекторов АПФ, способных влиять как на активность АПФ, так и на конформацию фермента.

Мы показали, что при разбавлении сыворотки крови человека приведенная активность АПФ в реакции гидролиза субстратов ZPHL и HHL увеличивается, что указывает на присутствие эндогенного ингибитора(-ов) АПФ в составе сыворотки. Теоретические расчеты показали, что в неразбавленной сыворотке крови может быть заингибировано 60-70% фермента. Разбавление сыворотки, её диализ и фильтрация на мембранах с различной пористостью от (100кДа до 3кДа) также влияют на связывание некоторых моноклональных антител (мАт) 1G12, 6A12, i2H5 к N-домену АПФ с ферментом из сыворотки крови. Ранее было показано, что связывание мАт 1G12 и 6A12 с АПФ сыворотки крови увеличивается под действием экзогенных ингибиторов фермента (эналаприлат, лизиноприл, каптоприл – аналоги ди- и трипептидов), используемых при терапии больных гипертонией и сердечно-сосудистых заболеваниях. Нонапептидный ингибитор АПФ тепротид, напротив, понижал связывание этих антител.

Мы показали, что эффектор, влияющий на связывание мАт 1G12, 6A12 и i2H5 присутствует во фракции сыворотки крови, прошедшей через фильтр 3 кДа, а его действие заключается в повышении связывания этих мАт аналогично действию тепротида.

Работа была частично поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект 11-04-01923-а).

ВЛИЯНИЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ПЕПТИДА CLAVATA3 НА УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В РЕГУЛЯЦИИ КЛЕТОЧНОГО ДЕЛЕНИЯ И РОСТА КЛЕТОК РАСТЯЖЕНИЕМ

Кулуев Б.Р., Нургалева Э.З., Никоноров Ю.М., Чемерис А.В.

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, 450054, г. Уфа, пр. Октября, 71

E-mail: kuluev@bk.ru

Растительный пептид CLAVATA3 состоит из 78 аминокислот, секретируется в межклеточное пространство и способен передвигаться по апопласту, при этом в зрелом состоянии он гликозилирован L-арабинозой и состоит из 12 аминокислот, которые составляют так называемый CLE-домен. CLAVATA3 является негативным регулятором клеточного деления и относится к широко распространенным в растениях пептидам семейства CLE, которые иногда называют также гликопептидными фитогормонами. Сверхэкспрессия CLAVATA3 в арабидопсисе способствует снижению экспрессии транскрипционного фактора WUSCHEL, что способствует более быстрой дифференцировке меристематических клеток в апикальной меристеме побега. Морфологически это приводит к тому, что меристема побега прекращает закладку органов сразу же после появления первых листьев, объем апикальной меристемы при этом меньше, чем в контроле. В табаке же проявления сверхэкспрессии данного пептида не должны быть столь катастрофичны, и это могло бы позволить выявить отклонения в морфофизиологических параметрах трансгенных растений и подойти ближе к пониманию вопроса о регуляции клеточной пролиферации в апикальной меристеме побега и листьях. Нами ранее были получены три линии трансгенных растений табака, экспрессирующие ген *CLAVATA3* под контролем 35S промотора (35S::*CLAVATA3*). Методом полуколичественной ОТ-ПЦР было показано, что в трансгенных растениях снижается уровень экспрессии гена *AINTEGUMENTA*, а уровень экспрессии генов *NtEXPA5* и *NtEXGT* сохраняется в пределах нормы. Методом количественной ОТ-ПЦР в режиме реального времени было показано, что в листьях 35S::*CLAVATA3* растений уровень экспрессии гена *AINTEGUMENTA* составляет всего лишь около 3% от уровня содержания мРНК α -тубулина. У контрольных растений содержание мРНК гена *AINTEGUMENTA* было больше приблизительно в 2 раза и составила около 6% по сравнению с уровнем экспрессии гена α -тубулина. Относительное содержание 18S рРНК в листьях 35S::*CLAVATA3* растений оказалось в 4 раза меньше, чем в контрольных растениях. В верхушках побегов уровень экспрессии *NtEXPA5* и 18S РНК практически не отличалась между собой у контрольных и 35S::*CLAVATA3* растений. Уровень экспрессии гена *AINTEGUMENTA* в верхушке побега при этом в 35S::*CLAVATA3* растениях составляла около 14% по сравнению с α -тубулином, тогда как в контрольных растениях она составляла 23% по сравнению с мРНК α -тубулина.

ИЗУЧЕНИЕ ТУМОРОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ

Лузянина А.А.¹, Горячева А.С.¹, Измestьева О.С.¹, Жаворонков Л.П.¹,
Дейгин В.И.²

¹Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение «Медицинский
Радиологический Научный Центр» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Россия, 249036, город Обнинск, улица Королева 4

²Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение науки Институт
биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, Россия, Москва

E-mail: a.luzyanina@mail.ru

Для изучения туморотропной эффективности были отобраны низкомолекулярные синтетические пептиды, созданные на дипептиде Glu-Trp, с одинаковым аминокислотным составом линейной и циклической структурой. Соединения синтезированы в ООО «Пептос Фарма» (г. Москва). Эксперименты выполнены на 2-3 месячных мышках-самках (СВАхС57Bl/6)F1 с массой тела 22-24 г. Использовали штамм экспериментальной опухоли легочной карциномы Льюис, перевиваемую *in vivo* с солидным характером роста. Животные-опухоленосители получали пептиды внутрибрюшинно в дозах 100 и 500 мкг/кг в 0,2 мл среды 199 ежедневно в течение 12 дней, начиная с 3-х суток роста опухоли. Противоопухолевую эффективность пептидов оценивали по общепринятым методикам оценки роста и спонтанного метастазирования перевиваемых опухолей экспериментальных животных.

В результате изучения соединений на пептидной основе выявлено, что к концу срока наблюдения во всех подопытных группах животных, получавших пептиды, отмечена тенденция к снижению объема опухолевого узла. Количество видимых метастазов на легких в этих группах было статистически значимо ниже, и индекс ингибирования метастазирования составил 50-70 %. Таким образом, в экспериментальной работе получены убедительные доказательства высокой противоопухолевой активности низкомолекулярных синтетических пептидов при их самостоятельном применении.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, № 14.740.11.0116.

ПЕПТИДНЫЕ ИНГИБИТОРЫ TNF- α - АНАЛОГИ ЦЕНТРОВ СВЯЗЫВАНИЯ ROXVIRUS L2 PROTEIN

Макаревич Д.А., Ткачук Т.Г., Мартинович В.П., Ермола Е.М.,
Голубович В.П.

*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Беларусь, 220141, Минск,
ул. Купревича, 5/2*

E-mail: demkarevich@yandex.ru

TNF- α , полифункциональный противовоспалительный цитокин, обладает цитотоксическим действием, иммуномодулирующим и противовоспалительным эффектом, участвует в противовирусном, противоопухолевом и трансплантационном иммунитете. Его гиперпродукция служит причиной развития ряда патологических состояний: в кровеносной системе усиливается синтез острофазовых белков и компонентов комплемента, увеличивается свертываемость и изменяется ионный состав крови; возможны другие патологические изменения вплоть до септического шока.

Целью настоящей работы являлось создание пептидных ингибиторов TNF- α - аналогов центров связывания его природных белковых ингибиторов. Поиск белковых структур был проведен в ProteinDatabank, в качестве белка-лиганда был выбран белок roxvirus L2 protein. Методами компьютерного моделирования с использованием оригинальных программ были рассчитаны предполагаемые участки связывания белка с TNF- α и спрогнозированы их пептидные аналоги. Поскольку в структуре roxvirus L2 protein имеются 3 участка, которые принимают участие в образовании комплекса с TNF- α , были синтезированы 3 пептида – аналоги связывающих центров белка.

Биологические исследования по ингибированию TNF- α проводили в модельных растворах, для определения содержания белка использовали иммуноферментный набор “DRG TNF- α (human) EIA.

При инкубировании белка с каждым из трех пептидов по отдельности процент ингибирования TNF- α составил от 13 до 36, в зависимости от концентрации и структуры пептидов. Смеси соединений показали большую эффективность – при одновременном инкубировании с двумя пептидами ингибирование составило от 32 до 59%, а для смеси их трех пептидов – от 38 до 61%. Такие результаты подтверждают, что исследуемые пептиды в модельной системе могут связываться с несколькими активными центрами в молекуле TNF- α и увеличивать степень ингибирования белка.

Исследованные пептиды могут служить основой субстанции лекарственного препарата – ингибитора TNF- α и лигандами сорбентов для избирательного удаления белка из крови.

ИССЛЕДОВАНИЕ РНК-СВЯЗЫВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНОГО БЕЛКА Nt-4/1 И ЕГО ПАТТЕРНА ЭКСПРЕССИИ

Макарова С.С.¹, Копертек Л.², Шиман Й.², Соловьев А.Г.¹, Морозов С.Ю.¹

¹НИИ физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Московский государственный университет» имени М.В.Ломоносова, 119992, Москва, Ленинские горы, дом 1, стр 40

²Институт биобезопасности генетически модифицированных растений, Институт Юлиуса Кюна, D-06484, Erwin-Baur-Str. 27, Кведлинбург, Германия

e-mail fxb@genebee.msu.su

В двугибридной дрожжевой системе при скрининге кДНК библиотеки *Arabidopsis thaliana* против транспортного белка вируса бронзовости томатов был обнаружен белок с неизвестной функцией, названный At-4/1 (von Bargaen *et al.*, 2001). Исходя из этого, нами было предположено, что 4/1 белок является фактором растения-хозяина, взаимодействующим с транспортным комплексом растительных патогенов. Мы предположили, что помимо белков транспортного комплекса 4/1 белок может взаимодействовать с нуклеиновой кислотой вирусов. Для проверки нашей гипотезы были проведены эксперименты по определению РНК-связывающих свойств белка ортолога At-4/1 – 4/1 белка из растений *Nicotiana tabacum* (Nt-4/1) методом сдвига в агарозном геле, позволяющим судить о возможности образования РНП комплексов *in vitro*. В эксперименте использовали разные формы РНК, и, в итоге, выяснили, что Nt-4/1 белок с высокой эффективностью взаимодействует с РНК вируса табачной мозаики и вириоида веретеновидности клубней картофеля. Для определения домена белка, ответственного за взаимодействие с РНК, нами были получены делеционные и точечные мутанты. В результате эксперимента нам удалось установить, что за взаимодействие с РНК отвечает последовательность KQKIMKLRK, расположенная в С-терминальном домене. Также полученные результаты были подтверждены методом норд-вестерн гибридизации. С помощью метода динамического лазерного светорассеяния нами были определены размеры рибонуклеопротеидного комплекса, формируемые *in vitro*. С помощью гистохимического окрашивания трансгенных растений *N. tabacum*, содержащих ген β-глюкуронидазы (*GUS*) под контролем Nt-4/1 промотора, мы установили, что экспрессия гена *Nt-4/1* главным образом наблюдается в жилках листьев. Таким образом, мы предполагаем, что растительный белок с неизвестной функцией Nt-4/1 взаимодействует с РНК патогенов в составе транспортных комплексов и, вероятно, влияет на их системное распространение по проводящей системе растения.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (номер проекта 12-04-00139-а) и стипендии FEBS для краткосрочных стажировок в Европе.

РАЗНООБРАЗИЕ ЦИСТЕИНОВЫХ ПЕПТИДАЗ СЕМЕЙСТВА ПАПАИНА У ЖУКОВ-ЧЕРНОТЕЛОК

Мартынов А.Г.¹, Опперт Б.², Элпидина Е.Н.³

¹Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, 119991, Ленинские горы, д.1, стр. 73

²USDA Agricultural Research Service, Center for Grain and Animal Health Research, 1515 College Avenue, Manhattan, KS 66502, USA

³Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, 119991, Ленинские горы, д.1, стр. 40

E-mail: agmart@mail.ru

Tenebrio molitor и *Tribolium castaneum* - родственные виды жуков-вредителей из семейства чернотелок со сходной организацией кишечника и диеты. Главную роль в их пищеварении играют секретируемые пептидазы семейства папаина, гомологи которых были впервые описаны и изучены как лизосомальные катепсины. Был проведен анализ разнообразия цистеиновых пептидаз (ЦП) семейства папаина у этих двух насекомых. Последовательности белков *T. castaneum* были взяты из секвенированного генома (NCBI), а последовательности *T. molitor* были получены в результате высокопроизводительного секвенирования кДНК, синтезированных на мРНК из кишечника личинок. Состав сайтов связывания субстратов был определен по гомологии с ЦП млекопитающих на основе множественных выравниваний последовательностей и сравнения 3D структур и моделей. Для *T. molitor* были найдены 17 белков, схожих с катепсинами L и им подобными белками, и 15 – с катепсинами В и подобными белками. Из генома *T. castaneum* были взяты 15 белков, схожих с катепсинами L, и 9 – с катепсинами В. У *T. molitor* лишь 3 пептидазы соответствовали катепсинам L млекопитающих, а у *T. castaneum* – одна. Состав S2 субсайта большинства катепсин L-подобных пептидаз, обнаруженных в обоих организмах, не соответствовал ни одному из описанных типов ЦП человека. Были найдены 3 пептидазы, у которых состав S1 субсайта также отличался от типичного, в том числе и аминокислоты, предположительно обуславливающие субстратную специфичность. В-подобные катепсины можно разделить на истинные катепсины В (по 3 в каждом организме), и группу не описанных белков, значительно отличающихся по структуре закрывающей петли. Найденные катепсин L- и катепсин В-подобные последовательности демонстрировали большое разнообразие в S2 субсайтах и содержали как гидрофобные, так и гидрофильные, в том числе заряженные аминокислоты, в то время как для классических гомологов характерны только гидрофобные остатки.

Работа поддержана РФФИ (12-04-01562-а и 12-04-31451-мол-а) и МНТЦ (3455).

ВЛИЯНИЕ СТАБИЛИЗИРУЮЩИХ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН В ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЧАСТИ α -ТРОПОМИОЗИНА СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ НА ЕГО СТРУКТУРУ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА

Матюшенко А.М.¹, Артемова Н.В.¹, Случанко Н.Н.¹, Щепкин Д.В.², Копылова Г.В.², Левицкий Д.И.^{1,3}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва 119071, Ленинский просп., д. 33

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН, 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, д. 106.

³НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова

E-mail: ammatyushenko@mail.ru

Тропомиозин (Тm) – это широко распространенный актин-связывающий белок, играющий важную роль в регуляции мышечного сокращения и клеточной подвижности. Молекула Тm – это димер, имеющий характерную структуру coiled-coil, строго детерминированную первичной последовательностью. В структуре Тm есть, однако, участки, не соответствующие этой модели; наименее изученным из них является центральная часть Тm. Ранее в этой части молекулы были выявлены два неканонических остатка, Asp137 и Gly126, нарушающих структуру coiled-coil в этой области; при этом было показано, что замены этих остатков на канонические остатки Leu или Arg (D137L и G126R) стабилизируют молекулу Тm, предотвращая ее протеолиз трипсином, и оказывают заметное влияние на регуляторные свойства Тm (Sumida et al., 2008; Nevzorov et al., 2011). Используя метод дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) в сочетании с другими методами и подходами, мы исследовали влияние мутаций G126R и D137L, вводимых как по отдельности, так и одновременно, на доменную структуру α -изоформы Тm скелетных мышц. На основании полученных данных сделан вывод, что мутация D137L, в отличие от G126R, стабилизирует не только центральную часть молекулы Тm, но и другие ее части, а одновременное введение обеих этих мутаций коренным образом изменяет доменную структуру всей молекулы Тm, включая N-концевой и C-концевой домены. При исследованиях функциональных свойств Тm показано, что внесение мутаций в центральную часть молекулы Тm не влияет на взаимодействие Тm с F-актином, но приводит к заметной стабилизации сформированных комплексов Тm с F-актином, повышая температуру их диссоциации. Более того, эти мутации в центральной части молекулы Тm оказывают заметное влияние на регуляторные свойства Тm, увеличивая скорость перемещения реконструированных актиновых филаментов в системе *in vitro* motility assay и изменяя кальциевую чувствительность такого перемещения.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант 12-04-00411).

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
ЦИТОИНСЕКТОТОКСИНОВ ИЗ ЯДА ПАУКА
*LACHESANA TARABAEVI***

Сачкова М.Ю., Ковальчук С.И., Василевский А.А., Гришин Е.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

E-mail: sachkovamasha@mail.ru

Цитоинсектотоксины из яда паука *Lachesana tarabaevi* – линейные полипептидные токсины, обладающие цитолитической и инсектицидной активностью. Эти необычно длинные молекулы (около 70 аминокислотных остатков) составлены из двух модулей, каждый из которых склонен к формированию амфипатической α -спирали и соответствует «обычному» цитотоксину из яда пауков. В отличие от коротких линейных токсинов, обладающих сильным антимикробным действием, но при этом неэффективных против насекомых, цитоинсектотоксины проявляют оба типа активности.

Химическим синтезом были получены полноразмерный цитоинсектотоксин 1a (СІТ-1a) и ряд его укороченных производных, в том числе пептиды, соответствующие его N-концевому (N-СІТ) и С-концевому (С-СІТ) доменам. Тестирование антимикробной активности полученных полипептидов показало, что действие каждого из модулей в отдельности значительно слабее, чем в случае полноразмерного пептида. Интересно, что минимальная ингибирующая концентрация N-СІТ на порядок ниже, чем у С-СІТ. В тестах на инсектицидную активность укороченные производные оказались неактивны. Можно предположить, что при взаимодействии с бактериальными мембранами С-концевой домен выступает в роли «энхансера» для N-концевого, а в случае с мембранами насекомых важна длина полипептида. В сравнении с отдельными доменами их смесь не обладала улучшенными свойствами, то есть для активности СІТ-1a необходим ковалентный комплекс его модулей.

Работа поддержана грантами РФФИ (№№ 11-04-00706 и 12-04-33151) и Минобрнауки РФ (соглашение № 8794), стипендией Президента РФ.

ПРОТЕАСОМЫ ПРИ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ ТКАНИ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В УСЛОВИЯХ ИНДУКЦИИ ДОНОРСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ У КРЫС

Степанова А.А.¹, Карпова Я.Д.¹, Божок Г.А.², Устиченко В.Д.², Люпина Ю.В.¹, Легач Е.И.², Бондаренко Т.П.², Шарова Н.П.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334, Москва, ул. Вавилова, 26
²Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, 61015, Харьков, ул. Переяславская, 23

E-mail: stepannette@gmail.com

Исследован пул протеасом печени крыс Август через 30 дней после аллотрансплантации ткани щитовидной железы под капсулу почки с предшествующей индукцией донорспецифической толерантности интрапортальным введением спленоцитов донора (крыс Вистар) или в ее отсутствие. В качестве контрольных групп использовали интактных крыс и ложнооперированных крыс. Методом Вестерн-блоттинга определен уровень тотального пула протеасом, иммунных протеасом, содержащих субъединицы LMP2 и/или LMP7, 19S- и 11S-регуляторов протеасом. Показано увеличение уровня иммунных протеасом всех типов и 11S-регулятора и уменьшение уровня общего пула протеасом и 19S-регулятора в печени опытных животных по сравнению с контрольными группами, что указывает на изменение функционального состояния печени после трансплантации. В печени животных без индукции толерантности происходит увеличение соотношения регуляторов 19S/11S по сравнению с индуцированными животными. Исследование прижившихся трансплантатов показало увеличение в них соотношения иммунных субъединиц LMP2/LMP7 и регуляторов 19S/11S по сравнению с отторгнутыми трансплантатами. В контрольной интактной ткани щитовидной железы практически отсутствуют иммунные протеасомы, а соотношение 19S/11S в ней максимально. Таким образом, развитие иммунной реакции или ее подавление зависит от баланса различных форм протеасом. Иммунная субъединица LMP7 и регулятор 11S обуславливают запуск иммунного ответа против чужеродной ткани, а иммунная субъединица LMP2 и регулятор 19S, очевидно, важны для развития иммунологической толерантности и нормального функционирования ткани.

Иммунофлуоресцентное исследование трансплантатов выявило низкое содержание иммунных протеасом в тироцитах сохранившихся фолликулов. Это может быть показателем отсутствия иммунного ответа против клеток, продуцирующих гормоны.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 12-04-31621-мол_а, грант № 12-04-90914-мол_снг_нр.

ВЛИЯНИЕ АРГИНИН-ВАЗОПРЕССИНА И ЕГО СИНТЕТИЧЕСКОГО ФРАГМЕНТА АВП 6-9 НА МАТЕРИНСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ БЕЛЫХ КРЫС

Танаева К.К., Дубынин В.А.

*Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова,
Биологический факультет, кафедра Физиологии человека и животных.
119234, г. Москва, Ленинские Горы, 1/12*

E-mail: ksetan@mail.ru

Целью данной работы стало исследование влияния аргинин-вазопрессина (далее АВП) и его синтетического фрагмента АВП 6-9 (Ac-D-Met-Pro-Arg-Gly, далее Фрагмент) на параметры материнской заботы самок крыс.

Оценку родительских реакций проводили с 4 по 9 дни после родов с использованием arenas открытого поля. Первые две минуты эксперимента регистрировали параметры общей двигательной активности самок. После этого в центр arenas помещали чашку Петри с тремя детенышами. При красном, а затем при ярком освещении оценивали латентные периоды и количество подходов самки к детенышам и их переносов. Препараты вводили интраназально с 1 по 6 дни после родов в дозе 10 мг/кг (n=7 в группе, получавшей АВП; n=8 в группе, получавшей Фрагмент). Контрольные животные получали физиологический раствор (n=9 в каждом из двух экспериментов).

Аргинин-вазопрессин в использованной дозе не оказал воздействия на поведение крыс как в присутствии детенышей, так и без них. Применение Фрагмента в той же дозе привело к подавлению родительских реакций. Так, на 5 и 6 дни после родов при красном освещении установки в опытной группе были достоверно повышены латентные периоды первого подхода к детенышам и их переносов, а количество подходов было ниже. При ярком свете различий между опытной и контрольной группами не выявлено. Характерно, что в контрольной группе достоверная активация родительских реакций при ярком свете по сравнению с красным наблюдается, начиная с 7 дня после родов. В группе, получавшей Фрагмент, уже на 5 и 6 дни самки достоверно быстрее подходили к детенышам и совершали больше подходов. Таким образом, яркий свет компенсировал эффект, вызванный введением препарата, и приблизил показатели поведения опытных животных к контрольным значениям.

Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-00756-а.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ГИДРОЛИЗА FRET-СУБСТРАТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ АНГИОТЕНЗИН-ПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА

Тихомирова В.Е., Биневский П.В., Кост О.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования “Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова”, 119234, г. Москва, Ленинские Горы, 1/12

E-mail: vikinedotroga@rambler.ru

Ангиотензин-превращающий фермент (АПФ) представляет огромный интерес для медицины, оказывая модулирующее влияние на многие процессы в организме. Полноразмерный АПФ состоит из двух доменов (N- и C-), каждый из которых содержит активный центр. Ранее было показано, что механизм совместного функционирования активных центров может определяться структурой лиганда. Целью данного исследования было установить механизм совместного функционирования активных центров полноразмерной формы АПФ при гидролизе субстратов с внутренним тушением флуоресценции (FRET-субстратов).

Исследования проводили на двудоменной соматической форме АПФ быка, а также двух однодоменных формах – тестикулярном АПФ (С-домен) и N-домене. Определены кинетические параметры гидролиза трех FRET-субстратов Abz-FRK(Dnp)P-OH, Abz-SDK(Dnp)P-OH и Abz-LFK(Dnp)-OH под действием трёх форм фермента. На основании полученных кинетических параметров было установлено проявление активными центрами полноразмерного АПФ отрицательной кооперативности при гидролизе всех трех FRET-субстратов. Отрицательная кооперативность активных центров фермента при гидролизе этих субстратов была подтверждена путем ингибирования двудоменной формы АПФ ингибиторами различной структуры.

Работа была частично поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект 11-04-01923-а).

РАЗВИТИЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ЭНДОМОРФИНА-2 ВО ВРЕМЕНИ

Чеснокова Е.А.¹, Сарычева Н.Ю.¹, Дубынин В.А.¹, Малышев А.В.¹, Калихевич В.Н.², Ардемасова З.А.², Каменский А.А.¹

¹Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова. Москва 119992, Ленинские горы, 1/12.

²Санкт-Петербургский государственный университет. Санкт-Петербург 199034, Университетская наб., 7/9

E-mail: katya.kilgor@gmail.com

Опиоидные пептиды играют важную роль в контроле болевой чувствительности, баланса мотиваций, обучения и других функций нервной системы. Эндоморфины-1 и -2 - наиболее специфичные из известных природных лигандов μ -опиоидных рецепторов. Пептидные нейромедиаторы часто одновременно активируют разные цепочки вторичных мессенджеров. Выброс пептида из нервных окончаний вызывает сложный комплекс физиологических эффектов, проявляющийся по-разному в зависимости от исходного состояния нервной системы. После инъекции пептидов животным наблюдаются не только непосредственные эффекты от связывания пептида с рецептором, но и косвенные изменения в работе нервной системы, часто сильно отставленные во времени от момента введения и даже от момента полного разрушения пептида ферментами.

Целью нашей работы стало сравнение непосредственных и отставленных эффектов от введения эндоморфина-2. Пептид вводили взрослым самцам белых крыс в дозе 5 мг/кг (в/б). Тестирование проводили в установке «открытое поле» через 20 минут или через 2 часа после инъекции. Через 20 минут после введения эндоморфина-2 достоверных отличий в поведении опытной и контрольной групп в «открытом поле» не наблюдалось. При тестировании через 2 часа после введения пептида у крыс, получивших эндоморфин-2, оказались значимо повышены горизонтальная и вертикальная активность, а также число переходов в сторону центра по сравнению с контролем. Число дефекаций, напротив, в опытной группе оказалось снижено. Для изменения пробега и числа стоек вероятность ошибки первого рода $p < 0,001$; для переходов в центр и дефекаций $p < 0,03$. Полученный результат свидетельствует о том, что эндоморфин-2 при внутрибрюшинном введении вызывает у крыс существенное усиление локомоторной активности, а также снижение тревожности. Однако для проявления этих эффектов требуется длительное время, что позволяет предположить сложный и многоступенчатый механизм их развития. Непосредственной мишенью эндоморфина-2, согласно литературным данным, являются μ -опиоидные рецепторы; последующие этапы его действия требуют дальнейших исследований.

Работа поддержана грантом РФФИ №12-04-01200-а.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНЫХ, АНТИОКСИДАНТНЫХ И ФЕРМЕНТАТИВНЫХ СВОЙСТВ ЛАКТОФЕРРИНА

Щербинина Т.С.¹, Куликов С.Н.², Ильина А.В.¹, Варламов В.П.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Центр «Биоинженерия» РАН, 117312, просп. 60-летия Октября, 7, к.1

²Федеральное бюджетное учреждение науки «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, 420015, г. Казань, ул. Большая Красная, д. 67

E-mail: tatyanashcherbinina88@gmail.com

Лактоферрин – негемовый железосвязывающий белок семейства трансферринов, вырабатывается в организмах млекопитающих, входит в состав различных секреторных жидкостей и обладает широким спектром биологических активностей. Межвидовая гомология лактоферрина составляет около 70%.

Целью нашей работы являлось исследование антимикробной, антиоксидантной и рибонуклеазной активностей лактоферрина из коровьего молока. В ходе работы лактоферрин был выделен методом ионообменной хроматографии на сорбенте «Диасфер-АК-Сульф» (Производство ЗАО «БиоХимМак СТ») из сыворотки коровьего молока. Были получены апо- и хололактоферрин. Степень насыщения лактоферрина железом была определена методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой. Для полученных образцов лактоферрина с разной степенью насыщения железом была определена минимальная ингибирующая концентрация (МИК) для микроорганизмов *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Candida albicans*. В ходе исследования было показано, что антимикробную активность проявляет железоненасыщенная форма лактоферрина (аполактоферрин). Наибольшую чувствительность к лактоферрину имела *C. albicans* (МИК 78 мкг/мл). Выделенный лактоферрин проявлял рибонуклеазную активность, при определении в качестве субстрата использовали РНК из дрожжей.

Антиоксидантную активность лактоферрина определяли двумя методами: колориметрией свободных радикалов, основанной на реакции с дифенилпикрилгидразилом (DPPH) с образцом антиоксиданта и методом ингибирования перекисного окисления липидов. Было определено, что антиоксидантной активностью обладает железоненасыщенная форма лактоферрина.

В результате проведенных исследований показано, что лактоферрин обладает антимикробными и антиоксидантными свойствами и рибонуклеазной активностью, что, в перспективе, позволит использовать его для создания ранозаживляющих покрытий.

СЕКЦИЯ 5

Химия и биология ферментов

**ХАРАКТЕРИСТИКА ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО КАТЕПСИНА L
ИЗ НАСЕКОМОГО-ВРЕДИТЕЛЯ *TRIBOLIUM CASTANEUM***

Воротникова Е.А.¹, Шарикова В.Ф.², Смирнова Ю.А.³, Филиппова И.Ю.²,
Элпидина Е.Н.³

¹Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ имени
М.В.Ломоносова, Москва, 119991, Ленинские горы, ГСП-1, стр. 73

²Химический факультет МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, 119991,
Ленинские горы, д.1, строение 3

³Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени
А.Н.Белозерского МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, 119991, Ленинские
горы, д.1, строение 40

E-mail: greenfire06@gmail.com

Tribolium castaneum (малый мучной хрущак) - жук из отряда Coleoptera, геном которого полностью секвенирован. Это насекомое является вредителем зерновых запасов, основными питательными веществами которого являются Gln- и Pro-богатые белки пшеницы - проламины, присутствующие также в диете большинства людей. Устойчивые к гидролизу пептиды проламинов могут вызывать целиакию – аутоиммунное заболевание кишечника. Ранее в нашей лаборатории было показано, что основными пищеварительными ферментами *T. castaneum* являются цистеиновые пептидазы (ЦП), обладающие постглутаминрасщепляющей активностью. Целью настоящей работы является характеристика главной пищеварительной ЦП личинок *T. castaneum* с возможностью дальнейшего использования этого фермента в качестве лекарства от целиакии. ЦП выделяли из экстракта пищеварительных ферментов личинок *T. castaneum* с использованием методов гель-фильтрации на сефадексе G-75 и нативного электрофореза, детектируя активность фермента в геле по флуорогенному субстрату Gln-Phe-Ala-AMC. С помощью MALDI-TOF и MS/MS масс-спектрометрии полученная ЦП идентифицирована как наиболее высокоэкспрессируемый в кишечнике *T. castaneum* катепсин L (катLTc) (NP_001164001). Изучена субстратная специфичность катLTc по отношению к серии хромогенных и флуорогенных субстратов, синтезированных в лаборатории, а также коммерческим хромогенным субстратам ЦП. В целом, субстратная специфичность катLTc совпала с субстратной специфичностью лизосомального катепсина L человека (катLч). Было изучено действие катLTc на флуорогенные аналоги фрагментов иммуногенных пептидов проламинов Abz-LPYRQQLPQ-EDDnp и Abz-QRQQPFQ-EDDnp. КатLTc гидролизует их в 2-4 раза быстрее, чем катLч.

В системе *Pichia pastoris* экспрессирован прокатепсин L *T. castaneum*, подобраны условия его процессинга в зрелый фермент и проведен сравнительный анализ нативного и рекомбинантного катLTc.

Работа поддержана грантами РФФИ 12-03-01057-а, 12-04-01562-а.

СТРУКТУРНОЕ СХОДСТВО АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ИЗ ПШЕНИЦЫ И НЕЙРОТОКСИНА ИЗ СКОРПИОНА ПОЗВОЛЯЕТ СОЗДАВАТЬ ХИМЕРНЫЕ МОЛЕКУЛЫ

Опарин П.Б.¹, Беркут А.А.¹, Усманова Д.Р.¹, Минеев К.С.¹, Арсеньев А.С.¹, Пеньёр С.², Титгат Я.², Гришин Е.В.¹, Егоров Ц.А.¹, Василевский А.А.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

²Католический университет Лёвена, Херestraат 49, 3000, Лёвен, Бельгия

E-mail: spud-13@mail.ru

Выделенный из пшеницы *Triticum kiharae* антимикробный пептид Тк-АМР-Х2 (28 остатков) является представителем семейства растительных защитных пептидов, названных α -гарпининами. Для всех α -гарпининов характерно наличие в аминокислотной последовательности двух консервативных мотивов СХХХС, где Х – любой остаток. С использованием полученного в бактериальной системе экспрессии изотопно меченого Тк-АМР-Х2 методом ЯМР-спектроскопии была исследована пространственная структура данного пептида в растворе. Подобно другим α -гарпининам Тк-АМР-Х2 представляет собой α -спиральную шпильку, стабилизированную двумя дисульфидами. Такой же тип укладки характерен для ряда других пептидов, выполняющих в природе совершенно иные функции. В частности, короткий пептид к-hefutoxin1 (22 остатка) из яда скорпиона *Heterometrus fulvipes* является блокатором калиевых каналов.

Для многих блокаторов калиевых каналов показана критическая роль так называемой диады, которая, как правило, составлена остатками тирозина и положительно заряженной аминокислоты. Путем точечного мутагенеза на базе Тк-АМР-Х2 был получен химерный пептид Тк-hefu, содержащий функционально важную диаду к-hefutoxin1. Было показано, что полученный мутант проявляет активность в отношении некоторых изоформ калиевых каналов, блокируя их даже эффективнее токсина-донора диады, в то время как исходный Тк-АМР-Х2 не проявляет никакого эффекта на этих каналах.

Представленные данные свидетельствуют в пользу возможности создания полифункциональных пептидов с «минималистичным» типом укладки, что, несомненно, может быть использовано в сельскохозяйственной биотехнологии. Кроме того, очевидный интерес представляет вопрос об эволюции дисульфид-стабилизированной α -спиральной шпильки у далеких таксонов.

Работа поддержана грантами РФФИ (№№ 11-04-00190 и 12-04-33151), Минобрнауки РФ (соглашение № 8794), стипендией Президента РФ и программой МКБ РАН.

ДЕЙСТВИЕ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕСС-ФАКТОРОВ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ У РАСТЕНИЙ

Репкина Н.С., Таланова В.В., Топчиева Л.В., Титов А.Ф.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра РАН, 185910, г. Петрозаводск, Пушкинская ул., д.11

E-mail: nrt9@ya.ru

Воздействие абиотических и биотических стресс-факторов приводит к активации экспрессии разных групп генов, в том числе генов, кодирующих протеолитические ферменты, которые играют важную роль в защитно-приспособительных реакциях растений. В настоящее время имеются данные о влиянии низких температур и тяжелых металлов на экспрессию генов некоторых протеиназ, однако подобные сведения о комбинированном воздействии этих стресс-факторов отсутствуют.

Эксперименты проводили в камерах искусственного климата на семидневных проростках пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Московская 39, которые подвергали воздействию низкой температуры (4°C) или сернокислого кадмия (100 мкМ), а также их совместному действию в течение 7 суток. Уровень экспрессии генов, кодирующих протеиназы хлоропластов и митохондрий (*ClpP* и *Lon1*), в листьях пшеницы анализировали методом ПЦР в режиме реального времени. В ходе исследований установлено, что под влиянием низкой температуры экспрессия генов *ClpP* и *Lon1* увеличивается через 1 ч от начала опыта, достигая максимума через 2-е и 3-е сут, соответственно. Спустя 7 сут уровень экспрессии указанных генов снижался до исходного значения. В присутствии кадмия накопление транскриптов гена *ClpP* отмечено уже через 15 мин, а гена *Lon1* – через 30 мин от начала воздействия. При более длительных экспозициях (5 ч – 3 сут) наблюдалось снижение экспрессии исследуемых генов, а на 6-е сут ее уровень незначительно возрастал относительно исходного значения. При одновременном (комбинированном) воздействии кадмия и низкой температуры происходило суммирование эффектов этих стресс-факторов, что приводило к большему усилению экспрессии *ClpP* и *Lon1* генов, чем при их раздельном действии.

Полученные нами данные о динамике экспрессии генов протеиназ *ClpP* и *Lon1* в условиях раздельного и совместного действия низких температур и тяжелых металлов позволяют сделать вывод об участии протеолитических ферментов в неспецифических защитных реакциях растений на действие стресс-факторов разной природы.

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение № 14.132.21.1421.

РАСЩЕПЛЕНИЕ ТРУДНОГИДРОЛИЗУЕМЫХ ИММУНОГЕННЫХ ПЕПТИДОВ ПРОЛАМИНОВ ЦИСТЕИНОВЫМИ ПЕПТИДАЗАМИ СЕМЕЙСТВА ПАПАИНА

Семашко Т.А.¹, Шарикова В.Ф.², Воротникова Е.А.³, Джулиано Л.⁴,
Элпидина Е.Н.¹, Филиппова И.Ю.²

¹НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, 119991, Ленинские горы, д.1, стр. 40

²Химический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, 119991, Ленинские горы, д.1, с. 3

³Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, 119991, Ленинские горы, ГСП-1, стр. 73

⁴Department of Biophysics, Universidade Federal de Sao Paulo, Escola Paulista de Medicina, Rua Tres de Maio, Sao Paulo, Brazil

E-mail: lerunehka_lu@mail.ru

Для скрининга ферментов, способных расщеплять трудногидролизуемые иммуногенные пептиды проламинов, нами проведен дизайн и осуществлен препаративный синтез окта- и декапептидов, являющихся фрагментами иммуногенных эпитопов α -5 – и γ -2-глиадинов (проламинов пшеницы) – QPQQPFPQ (I), LPYPQPQLPQ (II) и их флуорогенных аналогов с внутренним тушением флуоресценции Abz-QPQQPFPQ-EDDnp (III), Abz-LPYPQPQLPQ-EDDnp (IV), где Abz - флуорогенный остаток *o*-аминобензойной кислоты, EDDnp – остаток N-(2,4-динитрофенилэтилендиамина) - тушитель флуоресценции. Благодаря взаимному влиянию флуорофора и тушителя, находящихся в составе одной молекулы, исходный пептид не флуоресцирует. Возрастание флуоресценции фиксируется только в результате разрыва пептидной связи в произвольном месте субстрата за счет отщепления фрагмента молекулы, содержащей группу-тушитель.

Гидролиз пептидов проводили под действием аспартильной пептидазы пепсина, сериновых пептидаз трипсина, химотрипсина и субтилизина, металлопептидазы термолизина и цистеиновых пептидаз: папаина, фицина, бромелаина (растительного происхождения), катепсинов В и L (лизосомальных пептидаз млекопитающих и человека), а также пищеварительных пептидаз насекомых-вредителей зерновых запасов *Tenebrio molitor* и *Tribolium castaneum*. Контроль за ходом гидролиза в случае соединений (I) и (II) проводили методом ВЭЖХ, расщепление флуорогенных пептидов (III) и (IV) тестировали флуориметрически. Установлено, что синтезированные соединения расщеплялись только цистеиновыми пептидазами, причем с наибольшей эффективностью – катепсинами L из насекомых-вредителей семейства тенебрионидов, для которых проламины являются естественными пищевыми субстратами.

Работа поддержана грантами РФФИ 12-03-01057-а, 12-04-01562-а.

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ CYP51
ПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ РОДОВ *ASPERGILLUS* И *CANDIDA*,
ЯВЛЯЮЩИХСЯ ПРИЧИНОЙ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

Шкель Т.В., Василевская А.В., Гилеп А.А., Усанов С.А.

*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Республика Беларусь,
г. Минск*

E-mail: tvshkel@gmail.com

Микозы (грибковые заболевания) - широко распространенная группа инфекционных болезней, вызываемых паразитическими грибами (известно более 400 видов грибов, вызывающих заболевания у человека, список пополняется в среднем на 10 видов в год). Грибы из родов *Candida* и *Aspergillus* являются наиболее частыми возбудителями грибковой инфекции.

В настоящее время наблюдается резкое возрастание уровня частоты и тяжести грибковых инфекций (особенно у пациентов с иммунодефицитными состояниями и онкологической патологией), связанных с широким спектром патогенных грибковых агентов; а также появление штаммов, устойчивых к противогрибковым препаратам.

Одной из приоритетных мишеней противогрибковой терапии является ключевой фермент биосинтеза эргостерола (основной стерол плазматической мембраны грибов) – стерол-14 α -деметилаза (CYP51).

Нами было проведено молекулярное клонирование, оптимизированы условия экспрессии и осуществлена гетерологическая экспрессия, очистка и оценка лиганд-связывающих свойств CYP51 патогенных грибов *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Aspergillus fumigatus*, которые были выделены из клинических образцов и проявляли резистентность к противогрибковым препаратам. Кроме этого, был проведен молекулярный анализ гена *cyp51* из различных штаммов *Candida albicans* и высокопатогенного гриба *Candida guilliermondii*. В результате анализа нами были выявлены однонуклеотидные замены в гене *cyp51*, приводящие к замене аминокислотной последовательности. В гене *cyp51 Candida albicans* были обнаружены 4 мутации: K 179 E (Lys/Glu), L 224 I (Leu/Ile), G 307 C (Gly/Cys), M 372 T (Met/Thr). В гене *cyp51 Candida guilliermondii* – 1 мутация: C 37 W (Cys/Trp). Данные мутации не были описаны в литературе до настоящего времени и, возможно, они вносят определенный вклад в развитие резистентности к терапевтическим средствам, которые являются ингибиторами данного фермента.

Полученные высокоочищенные препараты белков могут быть использованы для оценки влияния различных веществ на свойства фермента, а также для выяснения роли мутаций в возникновении резистентности к ингибиторам различных штаммов патогенных грибов родов *Candida* и *Aspergillus*.

СЕКЦИЯ 6

**Инновационные лекарственные средства
на основе пептидов и белков.
Механизмы действия**

ГЕМОСТИМУЛИРУЮЩАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПЕПТИДОВ И ПЕПТИДОМИМЕТИКОВ В УСЛОВИЯХ РАДИАЦИОННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Горячева А.С.¹, Лузянина А.А.¹, Измestьева О.С.¹, Жаворонков Л.П.¹, Дейгин В.И.²

¹ФГБУ Медицинский радиологический научный центр Минздравсоцразвития России, 249036, г. Обнинск, ул. Королёва 4

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

E-mail: asgoryacheva@mail.ru

Повреждающее действие ионизирующей радиации на компартамент предшественников гемопоза не только определяет клинические проявления и исход лучевого поражения при остром общем облучении, вероятном в аварийных и критических ситуациях, но может являться лимитирующим фактором при разработке схем радио- и химиотерапии онкозаболеваний. В связи с этим мы сосредоточили внимание на поиске средств, позволяющих снижать повреждающий эффект радиации на популяцию КОЕ-С и обеспечить их интенсивное восстановление, что неизбежно ускорит и полноценное восстановление супрессированного кроветворения. Влияние пептидных препаратов, синтезированных в ООО «Пептос Фарма» (Москва), на нарушение и постлучевое восстановление кроветворения оценивали по критериям клеточности костного мозга, селезёнки и периферической крови. Мышей подвергали действию гамма-лучей ⁶⁰Со на установке «Луч» (Россия) однократно, в дозах 4 или 6 Гр (мощность дозы 48 сГр/мин) или фракционировано, в дозах 2 Гр×2, 2 Гр×3, 2 Гр×4. Установлено, что в сублетальном диапазоне доз (острое облучение животных в дозах 4 Гр или 6 Гр) реально существует возможность ускорения восстановления гемопоза некоторыми синтетическими пептидами, применяемыми в ближайшие сутки после облучения. Хотя выявленные эффекты существенно слабее проявляются при большей дозе облучения (6 Гр), установленные закономерности позволяют рассчитывать на то, что гемостимуляция синтетическими пептидами может, наряду с другими подходами занять своё место в комплексной терапии последствий действия ионизирующих излучений и, вероятно, химиотерапевтических препаратов. Гемостимулирующая эффективность пептидных препаратов в условиях фракционированного облучения ((2 Гр×2) или (2 Гр×3)) существенно выше, чем при однократном облучении в той же интегральной дозе (4 Гр или 6 Гр). При увеличении суммарной дозы облучения до 8,0 Гр гемостимулирующий эффект трипептида сохраняется, хотя степень восстановления самообновляющейся клеточной системы гемопоза в этом случае снижена. Полученные данные могут быть использованы при разработке средств и способов стимулирования кроветворения, лучевое поражение которого часто лимитирует проведение радио- и химиотерапии злокачественных новообразований.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО АЛЬФА-КОНОТОКСИНА Rg1A

Димитриева Т.В., Крюкова Е.В., Рязанцев Д.Ю.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук
117997 Москва, Миклухо-Маклая 16/10*

E-mail: dimitrieva.ta@gmail.com

Хищные морские моллюски *Copus* – богатый источник биологически активных пептидов, которые являются антагонистами и модуляторами различных рецепторов млекопитающих. Конотоксины – это короткие пептиды (10-30 АК) с одной или несколькими дисульфидными связями. Структурной особенностью α -конотоксинов является наличие двух дисульфидных связей с характерным расположением остатков цистеина вдоль аминокислотной цепи (СС-С-С) и их замыканием (C^1 - C^3 и C^2 - C^4). Среди них известны ингибиторы мышечных и нейрональных никотиновых ацетилхолиновых рецепторов (нАХР), калиевых, натриевых и кальциевых каналов. Недавно открытый α -конотоксин Rg1A из яда *C. regius* обладает самым высоким сродством к $\alpha 9$ -субъединице нАХР среди всех известных лигандов. Помимо этого, он является активатором рецепторов ГАМК, что проявляется в модулировании кальциевых токов через каналы N-типа. α -конотоксин Rg1A представляет особый интерес как потенциальный анальгетический препарат для лечения хронического болевого синдрома, так как обладает антиноцицептивным действием.

Целью данной работы является получение рекомбинантного альфа-конотоксина Rg1A в препаративных количествах.

В процессе работы были собраны два искусственных гена, кодирующие пептид, слитый с тиоредоксином. Предусмотрено два варианта расщепления слитого полипептида – бромцианом по метионину и легкой цепью энтерокиназы по специфичному сайту DDDDR. В результате получили гибридный белок в растворимой форме, подвергли его ферментативному расщеплению, продукты были разделены с помощью обращено-фазовой ВЖХ на колонке μ RPC C2/C18 4,6/100 и идентифицированы на масс-спектрометре. Масса двух продуктов (время удержания 10 и 13 мин) совпала с теоретически рассчитанной и с массой синтетического α -конотоксина Rg1A с характерным для природных α -конотоксинов замыканием дисульфидов (C^1 - C^3 и C^2 - C^4) (время удержания 13 мин).

Полученный рекомбинантный конотоксин планируется использовать в качестве инструмента для специфической идентификации $\alpha 9$ -субъединицы нАХР.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕТИНОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДОВ ПРИ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ

Проняева В.Е., Трофимова С.В., Бенберин В.В.

*Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии,
197110, г. Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3*

E-mail: miayu@yandex.ru

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) является ведущей причиной потери зрения у лиц старше 50 лет. В основе патогенеза ВМД лежит дисфункция клеток пигментного эпителия сетчатки (ПЭС). Пептидные биорегуляторы эффективно применяются для лечения ВМД и другой возрастной патологии сетчатки. Целью нашего исследования стало изучение молекулярных механизмов ретинопротекторного действия пептидных биорегуляторов.

В исследовании использовали органотипические культуры клеток сетчатки куриных эмбрионов, разделённые на 4 части: 1 (контрольную) – с добавлением физиологического раствора и 3 экспериментальных: 2 – с введением контрольного пептида АВ-0 в концентрации 0,05 нг/мл, 3 – с введением пептида АЕ-0 (0,05 нг/мл) и 4 – с введением пептида АВ-17 (0,05 нг/мл). Культуры помещали в инкубатор (37С, 5% CO₂) на 3 суток и затем проводили иммуноцитохимическое окрашивание к маркеру клеток ПЭС - ТТР (1:50, Dako). Окрашенные культуры фотографировали в программе АСТ-1. Оценку площади экспрессии в % и оптической плотности проводили с помощью программы “ВидеоТест-Морфология 5.2”.

Установлено, что пептид АЕ-0 способствовал увеличению экспрессии ТТР в 2,1 раза до 0,04±0,01% (p<0,05) по сравнению с контрольной группой (0,019±0,007%). Более сильный стимулирующий эффект на экспрессию ТТР оказал пептид АВ-17, под действием которого площадь экспрессии составила 0,045±0,009%, что в 2,4 раза больше по сравнению с контролем. Пептиды АЕ-0 и АВ-17 также способствовали увеличению оптической плотности экспрессии ТТР на 34% и 32% (0,59±0,02 у.е. и 0,58±0,02 у.е., p<0,05) относительно контрольной группы (0,44±0,09 у.е.). При этом контрольный пептид АВ-0 не влиял на экспрессию маркера ТТР.

Таким образом, пептиды АЕ-0 и АВ-17 оказывают выраженное стимулирующее действие на экспрессию маркера ТТР, участвующего в дифференцировке клеток ПЭС, что может лежать в основе их ретинопротекторного действия у пациентов с ВМД.

**ПРИГОТОВЛЕНИЕ АФФИННЫХ СОРБЕНТОВ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ
ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫХ ГЛИКОПРОТЕИНОВ МИОКАРДА**

Усачев С.А., Ямалеева А.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный университет», 450076, г. Уфа, Заки Валиди ул., д.32

E-mail: nuggetus@mail.ru

Создание инновационных лекарственных форм является приоритетной задачей биотехнологической области фарминдустрии. На современном этапе около 25% мирового объема продаж лекарств занимают препараты с улучшенной системой доставки (Соснов и др., 2008). Для таких систем доставки используют различные виды контейнеров, однако наибольшее применение в клинической практике находят липидные наноконтейнеры – липосомы (Goyaletal., 2005;Uchidaetal., 2008). В то же время, липосомы не обладают способностью концентрироваться в тех местах, где они необходимы, то есть в тканях, которые требуют лечения (Тараховский, 2010).

Цель нашей работы – биохимический синтез наноконтейнеров, несущих на своей поверхности тканеспецифичные молекулярные устройства (векторы) для распознавания кардиомиоцитов. На основании данных литературы и предварительного этапа собственных исследований, в качестве потенциальных векторов были выбраны гликопротеины, являющиеся лигандами тканеспецифичных молекул межклеточной адгезии.

Для выделения гликопротеинов миокарда на первом этапе мы использовали аффинную хроматографию. Аффинные сорбенты трех типов готовили из миокарда лабораторных крыс различными методиками. Первый тип – лектиновый сорбент на основе CNBr-activatedSephарose. При этом использовали лектины животного происхождения, выделенные из миокарда крыс. Вторым типом сорбента были выбраны фрагменты клеточных мембран кардиомиоцитов. Режим получения сорбента исключал дегидратацию клеточных мембран, чтобы их рецепторы оставались свободными и доступными (в качестве связующего полимера использовали полиакрилонитрил). Третий тип сорбента мы готовили также из миокарда крыс по собственной методике, получив три вида гистогомогенатных сорбентов.

Следующей задачей на пути биохимического синтеза тканеспецифичных наночастиц для адресной доставки лекарственных веществ является применение приготовленных сорбентов для выделения гликопротеинов, обладающих наибольшей аффинностью и специфичностью к миокарду.

ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ СИМПОЗИУМА
ЗАОЧНОЕ УЧАСТИЕ

**КРИСТАЛЛИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА КОМПЛЕКСОВ
КАРБОКСИПЕПТИДАЗЫ Т ИЗ *ACTYNO MYCES VULGARIS*
С ДИКАРБОНОВЫМИ КИСЛОТАМИ - АНАЛОГАМИ АРГИНИНА
И ФЕНИЛАЛАНИНА**

Акпаров В.Х.¹, Тимофеев В.И.², Кузнецов С.А.², Честухина Г.Г.¹,
Куранова И.П.²

¹Государственный научно-исследовательский институт генетики и
селекции промышленных микроорганизмов, 117545 Москва, 1-й Дорожный
проезд, 1

²Институт кристаллографии им. А.В. Шубникова РАН, 119333 Москва,
Ленинский проспект, 56

e-mail: valery@akparov.ru

Металлокарбоксипептидаза Т (КПТ) из *Thermoactinomyces vulgaris* обладает необычной «двойной» субстратной специфичностью, отщепляя как заряженные, так и гидрофобные остатки с С-конца пептидов. Причина этого до сих пор была неясна. Методом рентгеноструктурного анализа определена пространственная структура комплексов зрелой КПТ с бензилянтарной и гуанидиноэтилмеркаптоянтарной кислотами. Показано, что положение боковых радикалов этих остатков в комплексах с КПТ отличается от такового в соответствующих комплексах с панкреатическими карбоксипептидазами А и В (КПА и КПВ). Окружение бокового радикала аналога фенилаланина в КПТ более гидрофильно, чем в КПА, и представлено в КПА Thr268, а в КПТ – Thr250, Asp253 и двумя молекулами воды. Положение бокового радикала аналога фенилаланина зависит от взаимодействия с остатками Asp260 и Leu211 в КПТ и Asn144 и Pe243 в КПА. Гуанидиновая группа лиганда в КПВ находится в контакте с 3-5 молекулами воды, тогда как в КПТ - всего с 2-мя молекулами. Различие в положении бокового радикала аналогов аргинина в КПТ и КПВ зависит от влияния остатков Gly253, Asp255 в КПВ и соответствующих остатков в КПТ. При связывании аналога фенилаланина из S1'- субсайта КПТ вытесняется одна молекула воды, а из S1'- субсайта КПА вода не вытесняется. Обнаружено, что участок пептидной цепи КПТ, включающий Leu254 и Tyr255, при образовании комплекса с бензилянтарной кислотой смещается в сторону лиганда на 1,02Å, тогда как в случае комплекса с гуанидиноэтилмеркаптоянтарной кислотой такого смещения не наблюдается. Выявленные структурные различия могут быть причиной как двойной субстратной специфичности КПТ, так и большей склонности к расщеплению гидрофобных субстратов по сравнению с положительно заряженными.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ОЧИСТКА НОВОЙ ФИТАЗЫ БАЦИЛЛ

Ахметова А.И., Шарипова М.Р.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань,
Кремлевская, 18

E-mail: akhmetova.alina@gmail.com

Недостаток фосфора в почве отражается на производительности сельскохозяйственных культур. Низкая его биодоступность для растений обусловленная образованием нерастворимых соединений – фитатов, является важной научно-практической проблемой [Ramesh A., 2011]. Фитаты составляют около 50% от общего органического фосфора в почве и более 80% от общего фосфора в кормах растительного происхождения. Ферменты фитазы гидролизуют фитаты с образованием инозитола и доступных солей фосфорной кислоты [Farhat-Khemakhem A., 2012]. Микробные фитазы, способные расщеплять почвенные нерастворимые фитаты, обладают высоким практическим потенциалом и могут быть использованы для внесения в почву в качестве удобрения и как добавки в корма [Tran T.T., 2010]. При добавлении фитаз нет необходимости в экзогенном внесении фосфора, что благоприятно влияет на окружающую среду [Tran T.T., 2010]. Фитазы являются актуальными и высокопотенциальными агентами биотехнологии. Поэтому ведется постоянный поиск новых фитаз для использования в сельском хозяйстве и животноводстве.

Цель работы состояла в выделении и очистке β -пропеллерной фитазы *Bacillus ginsengihumi* из клеток рекомбинантного штамма, определение структуры и некоторых свойств белка. Фитазу *B. ginsengihumi* выделяли из клеток рекомбинантного штамма *E. coli* Rosseta pET-LIC/Phy с помощью аффинной хроматографии на Ni-гранулах, ионообменной хроматографии на Q-сефарозе и гель-фильтрации на колонке Sephadex G200 16/60 в системе жидкостной хроматографии быстрого разрешения. В результате трех стадий очистки клеточных лизатов нами получен препарат фитазы со степенью очистки, равной 500, и выходом по активности 9.1%. Использованный нами прием аффинной хроматографии позволил получить хроматографически гомогенный препарат фитазы из лизатов рекомбинантного штамма. Молекулярная масса белка составила 41 кДа. Установлено, что аминокислотная последовательность фитазы идентична полученной из последовательности нуклеотидов секвенированного нами гена фитазы *B. ginsengihumi*. Последовательность аминокислот фитазы включала 371 а.о., что соответствовало молекулярной массе белка 41 кДа и подтверждало данные, полученные нами с помощью SDS-электрофореза.

Работа поддержана Федеральной целевой программой «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг. соглашение №14.А18.21.0575 от 10.08.2012 и грантом РФФИ 12-08-00942а.

**ВНЕКЛЕТОЧНАЯ МЕТЦИНКИНОВАЯ
АДАМАЛИЗИНОПОДОБНАЯ ПРОТЕИНАЗА БАЦИЛЛ**

Балабан Н.П., Рудакова Н.Л., Валеева Л.Р., Шарипова М.Р.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань,
ул. Кремлевская, 18

E-mail: Nellybalaban@yandex.ru

Цинкзависимые металлоэндопептидазы (цинкины) – в основном, эукариотические мультидоменные белки, которые вовлечены во множество биологических процессов. Метцинкины, один из представительных кланов этих ферментов, включают несколько различных семейств внеклеточных и мембраносвязанных протеиназ, выполняющих в клетке не только пищеварительную, но и регуляторные функции на посттрансляционном уровне. Нарушение клеточных механизмов регуляции может привести к возникновению и развитию патологических процессов, поэтому изучение функциональных особенностей и механизма действия этих ферментов является приоритетным в области медицины и биотехнологии. Бактериальные протеиназы – аналоги эукариотических метцинкинов – являются идеальной моделью для таких исследований и обладают высоким потенциалом практического применения.

Из культуральной жидкости рекомбинантного штамма *Bacillus subtilis*, несущего ген металлоэндопептидазы *Bacilluspumilus* на плазмиде pSA1, выделена новая внеклеточная металлоэндопептидаза MprBp. Установлена нуклеотидная последовательность гена (GenBank accession number EU 678894). Белок выделен в гомогенном состоянии, изучены его физико-химические свойства, субстратная специфичность и определена первичная структура, которая идентична аминокислотной последовательности, полученной на основании последовательности нуклеотидов секвенированного гена *mprBp*. Зрелый белок по ключевым аминокислотным остаткам в структуре мотива активного центра и наличию консервативного Met-поворота классифицирован как фермент, относящийся к клану метцинкинов. По наличию остатка аспартата рядом с третьим гистидином мотива активного центра и остатка цистеина в Met-повороте фермент принадлежит к семейству адамализинов, но N-концевая аминокислота аланин и наличие в Met-повороте остатка тирозина, которые характерны для семейства астацинов, сближают MprBp с ферментами этого семейства. Таким образом, новая бактериальная внеклеточная металлоэндопептидаза обладает уникальным сочетанием структурных особенностей двух семейств эукариотических ферментов клана метцинкинов и является первым представителем семейства адамализиноподобных протеиназ у бацилл.

Работа выполнена при финансовой поддержке федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 гг.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЦИТОХРОМА b_5 С ЦИТОХРОМАМИ P450 3A4 И 51A1

Бритиков В.В., Янцевич А.В., Усанов С.А.

Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, 220141, г. Минск, ул. академика В.Ф. Купревича, д.5, корп.2

E-mail: britikov@iboch.bas-net.by

Цитохром b_5 (*cyt b₅*) – небольшой мембранный гемопротеид (16 кДа), локализованный в мембранах эндоплазматического ретикула. *Cyt b₅* участвует в десатуразной реакции окисления жирных кислот (Strittmatter et al, 1974), восстановлении метгемоглобина в эритроцитах (Hultquist et al, 1971), гидроксировании N-ацетилнейраминовой кислоты (Takematsu, 1994) и монооксигеназных реакциях, катализируемых цитохромом P450 (Jansson et al, 1987).

В данной работе создана экспрессионная система для биосинтеза рекомбинантного *cyt b₅* человека в клетках *E. coli*, которая позволяет получать более 220 мг фермента (чистота более 95% по данным ДСН-электрофореза) с литра культуральной среды. С использованием метода разностного спектрофотометрического титрования проведена оценка связывания *cyt b₅* с изоформами цитохрома P450: CYP3A4 и CYP51A1. Равновесная константа диссоциации комплекса CYP3A4: *cyt b₅* равна $4,58 \pm 0,95$ мкМ. Титрование CYP51A1 *cyt b₅* не приводило к детектируемому спиновому переходу. В активном центре CYP51A1 связывается битертанол ($K_d = 2,9 \pm 0,7$ мкМ), при этом, насыщающая амплитуда изменений в разностном спектре при титровании CYP51A1 битертанолом, зависит от присутствия в растворе *cyt b₅*, что косвенно свидетельствует о связывании *cyt b₅*. С помощью метода броуновской динамики проведена компьютерная симуляция процесса комплексообразования CYP3A4 с *cyt b₅*, при этом установлено, что *cyt b₅* связывается с проксимальной стороны гема CYP3A4.

Статистический анализ показал, что среднее расстояние между атомами железа гема CYP3A4 и *cyt b₅* составляет 18,4 Å. При этом средняя величина энергии электростатического взаимодействия комплекса, рассчитанная числовым решением нелинейного уравнения Пуассона-Больцмана алгоритмом Уорвикера-Уотсона (Warwicker, 1982), равна 210 ккал/моль, максимальная константа скорости бимолекулярной реакции ассоциации, рассчитанная на основании траекторий броуновской динамики (Northrup, 1987) для данных белков составила $2,5 \times 10^8$ М⁻¹сек⁻¹, а среднее значение этой величины по двадцати конформациям *cyt b₅* (Nunez et al, 2010) составило $7,6 \times 10^7$ М⁻¹сек⁻¹.

Получена и охарактеризована Zn²⁺-замещенная форма *cyt b₅* человека. Флуоресцентные свойства данного белка открывают перспективы его использования для установления механизмов функционирования монооксигеназных систем.

ИК-СПЕКТРОСКОПИЯ МУТАНТНЫХ ВАРИАНТОВ ЦИТОХРОМА С, ОБЛАДАЮЩИХ ПОНИЖЕННОЙ ЭЛЕКТРОН-ТРАНСПОРТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Брянцева Т.В.^{1,2}, Черткова Р.В.², Браже А.Р.¹, Некрасов А.Н.², Юсипович А.И.¹, Долгих Д.А.^{1,2}, Кирпичников М.П.^{1,2}, Браже Н.А.¹, Максимов Г.В.¹

¹ *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, 119991, г. Москва, Ленинские горы д.1, стр.12*

² *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая д.16/10*

E-mail: tato-tato@list.ru

На основании данных компьютерного моделирования методом анализа информационной структуры белка (АНИС-методом) в цитохроме *c*, гемсодержащем белке, был идентифицирован участок (76-83) а.о. Этот участок, обладающий повышенной конформационной гибкостью, был предложен в качестве мишени для введения аминокислотных замен с целью подавления электрон-транспортной активности цитохрома *c*.

Ранее нами был получен ряд мутантных вариантов цитохрома *c* с заменами I81Y/A83Y/G84N, T78N/K79Y/M80I/I81M/F82N, T78S/K79P и R76I/G77L/I81L/F82L. В системе митопластов печени крысы было показано, что рекомбинантные белки обладают существенно более сниженной электрон-транспортной активностью по сравнению с цитохромом *c* дикого типа. Методом ИК-спектроскопии были изучены структурные свойства полипептидной цепи и гемового микроокружения мутантных вариантов цитохрома *c* в их окисленных формах. Спектр мутантных вариантов цитохрома *c* в полосе амид-I характеризуется наличием пиков в области 1631-1635 см⁻¹ и 1681-1695 см⁻¹. Эти частотные сдвиги свидетельствуют о приобретении мутантными вариантами структурных элементов β-складок и β-поворотов. В полосе амид-II мутантных вариантов также наблюдаются значительные частотные сдвиги сигнала 1533 см⁻¹. Эти спектральные сдвиги проявляются за счёт характерных сигналов аминокислот, введённых в молекулу цитохрома *c*, а также элементов β-структур. В отношении изменения гемового микроокружения спектральные изменения можно интерпретировать как замедление симметричных и ассиметричных колебаний пропионовых групп боковых заместителей гема, что косвенно свидетельствует о более жёстком окружении гема в мутантных вариантах по сравнению с цитохромом *c* дикого типа. Полученные результаты спектральных исследований мутантных вариантов согласуются с данными, полученными ранее методом кругового дихроизма, АНИС-методом и биохимическими методами.

Полученные данные свидетельствуют о том, что участок (76-83) а.о. играет существенную роль в конформационных перестройках, необходимых для реализации электрон-транспортной функции цитохрома *c*.

**МОЛЕКУЛЯРНОЕ КЛОНИРОВАНИЕ, ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКАЯ
ЭКСПРЕССИЯ, ВЫДЕЛЕНИЕ, ОЧИСТКА И ИЗУЧЕНИЕ ЛИГАНД-
СВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ ЦИТОХРОМОВ P450
МИКОБАКТЕРИЙ**

Василевская А.В., Дормешкин Д.О., Шкель Т.В., Сергеев Г.В., Гилеп А.А.

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск

E-mail: vasilevskaya@iboch.bas-net.by

Цитохромы P450 (P450) выполняют ключевые функции в метаболизме микобактерий и потенциально могут участвовать в деградации большинства противотуберкулёзных препаратов. Выяснение механизмов участия цитохромов в жизнедеятельности и патогенезе микобактерий, а также накопление информации о P450 патогенных микобактерий значительно упростит процесс создания новых противотуберкулёзных препаратов, механизм действия которых связан с ингибированием данных ферментов.

В результате проведенной работы нами проведено молекулярное клонирование, гетерологическая экспрессия и выделение в высокоочищенном состоянии цитохромов CYP51, CYP124, CYP125 и CYP136 *Mycobacterium tuberculosis H37Rv*. Изучена субстратная специфичность цитохромов по отношению к различным метил-разветвленным липидам, производным стероидов и витаминам группы Д. Кроме того, было показано эффективное связывание полученными цитохромами известных ингибиторов P450 (противогрибковых препаратов) - азотсодержащих гетероциклических соединений, таких как эконазол, миконазол, кетоконазол и клотримазол - перспективных мишеней при разработке новых противотуберкулёзных лекарственных препаратов.

**ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ТРОМБОЛИТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ НА
ОСНОВЕ СЕРИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ**

Данилова Ю.В., Шарипова М.Р.

*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего профессионального образования Казанский (Приволжский)
Федеральный Университет, 420008, г. Казань, Кремлевская ул., д.18.*

E-mail: Danilova146@mail.ru

В настоящее время велика потребность в тромболитических препаратах, поэтому актуальны исследования фибринолитических свойств ферментов, включая бактериальные. Наметилась тенденция к активизации двух направлений: создание препаратов, стимулирующих фибринолиз с помощью активаторов фибринолитической системы организма и препаратов, снижающих коагулянтную активность тромбоцитов. Большинство специалистов отмечают, что максимальный тромболитический эффект возможен при комбинированном введении препаратов.

В работе проводили изучение фибринолитических, тромболитических и антикоагулянтных свойств внеклеточных сериновых протеиназ *Bacillus pumilus*. Выявлена способность ферментов лизировать фибриновые пластинки. Однако способность бактериальных белков лизировать фибриноген не всегда адекватно отражает его способность лизировать тромб, образованный из плазмы крови, поскольку в ней могут содержаться ингибиторы протеиназ. В опытах *in vitro* нами показано, что исследуемые протеиназы лизировали кровяной сгусток и оказывали выраженное антикоагулянтное действие. Сделано заключение, что сериновые протеиназы *B. pumilus* обладают высокой фибринолитической активностью, а также тромболитическими и антикоагулянтными свойствами. Полученные результаты позволяют предположить, что субтилизиноподобная протеиназа и глутамилэндопептидаза *B. Pumilus* являются перспективными для разработки тромболитических препаратов.

Работа поддержана в рамках федеральной целевой программы "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" на 2009-2013 гг. ГК № 16.740.11.0741.

**ПОЛУЧЕНИЕ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА МУТАНТНОЙ ФОРМЫ CYP7B1 ЧЕЛОВЕКА
R486C.**

Диченко Я.В., Янцевич А.В., Усанов С.А.

*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси,
220141, г. Минск, ул. академика В.Ф. Купревича, д.5, корп.2*

E-mail: dichenko@iboch.bas-net.by

Цитохром P450 7B1 (CYP7B1, EC 1.14.13.100) – фермент (506 аминокислотных остатков, M ~56 кДа), локализованный в эндоплазматическом ретикулуме и катализирующий реакции 6 α - и 7 α -гидроксилирования широкого круга стероидов (Stiles et al., 2009). Ген *cyp7b1* обнаружен у различных групп организмов. Наибольший уровень кодирующей CYP7B1 мРНК зафиксирован в клетках почек и мозга (Stiles et al., 2009). CYP7B1 является ключевым ферментом в различных метаболических процессах: биосинтез предшественников желчных кислот (Chiang, 1998), метаболизм нейростероидов (Steckelbroeck et al., 2002), регуляция синтеза иммуноглобулинов (Bauman et al., 2009) и метаболизм лигандов эстрогеновых рецепторов (Omoto et al., 2005). Мутации, связанные с нарушением функционирования цитохрома P450 7B1, приводят к ряду генетических заболеваний: дисфункция печени у новорожденных, спастическая параплегия 5-го типа у взрослых (Stiles et al., 2009). Причина данных заболеваний на молекулярном уровне до настоящего времени не выявлена.

В представленной работе нами проведен *in silico* анализ мутантной формы CYP7B1 человека R486C (CYP7B1 R486C), связанной с возникновением спастической параплегии типа 5, создана экспрессионная система для наработки рекомбинантного CYP7B1 R486C, получен и охарактеризован высокоочищенный препарат фермента. Множественное выравнивание последовательностей аминокислотных последовательностей белков семейства CYP7 из различных организмов, а также результаты анализа компьютерной модели CYP7B1 указывают на то, что мутация Arg486Cys может приводить к изменению лиганд-связывающих свойств CYP7B1. Экспериментами *in vitro* показано, что CYP7B1 R486C обладает меньшей стабильностью по сравнению с диким типом CYP7B1 (WT). Кроме того, мутация приводит к изменению лиганд-связывающих и каталитических свойств фермента.

Полученные данные вносят вклад в понимание молекулярных механизмов, лежащих в основе метаболических отклонений, связанных с возникновением точечной мутации фермента CYP7B1 Arg486Cys.

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОЙ 11 β -ГИДРОКСИЛАЗЫ ЧЕЛОВЕКА И ХАРАКТЕРИСТИКА ЕЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ

Дмитроченко А.Е., Черкесова Т.С., Янцевич А.В., Усанов С.А.

*Институт биоорганической химии НАН Беларуси 220141, г. Минск,
ул. ак. Купревича, 5/2*

E-mail: dmitrochenko@iboch.bas-net.by

Фермент 11 β -гидроксилаза (CYP11B1) катализирует финальные стадии биосинтеза кортизола и кортикостерона. Изменения в активности 11 β -гидроксилазы приводят к нарушению биосинтеза стероидных гормонов, что является второй по значимости причиной возникновения гипертонии и других заболеваний сердечно-сосудистой системы (Curnow et al., 1993). В связи с этим модуляторы активности CYP11B1 могут выступать в качестве потенциальных лекарственных средств. Цель данной работы – разработка схемы получения рекомбинантного фермента CYP11B1 и характеристика его функциональных свойств.

В данной работе для получения CYP11B1 использовали экспрессионную систему, состоящую из клеток *E. coli* штамма DH5 α и плазмидную ДНК pCWori+CYP11B1, несущую ген CYP11B1, регулируемый Таq-промотором. В связи с низкой стабильностью фермента экспрессионная система была дополнена вектором, кодирующим экспрессию молекулярного шаперона pGro12. Для наработки ферментного препарата синтез белка индуцировали добавлением изопропил- β -D-1-тиогалактопиранозида, после чего клетки культивировали в течение 36 часов при температуре 26 $^{\circ}$ C. Схема получения 11 β -гидроксилазы включала разрушение клеток механическим способом, фракционирование компонентов центрифугированием, металлоаффинную хроматографию и хроматографию на кальций-тарtratном геле. Выход фермента составил 400 нмоль белка из 1 л культуральной среды. Чистота ферментного препарата составила не менее 95% по данным ДСН-электрофореза.

Функциональные свойства ферментного препарата охарактеризованы путем использования ряда подходов (спектрометрическое титрование субстратами, анализ активности фермента). Для изучения топологии активного центра CYP11B1, а также для выявления потенциальных селективных ингибиторов активности фермента провели скрининг лигандов активного центра среди ряда замещенных производных имидазола и триазола.

Таким образом, получен функционально активный ферментный препарат CYP11B1 человека в препаративных количествах, охарактеризованы его свойства и проведен анализ взаимодействия фермента с рядом потенциальных ингибиторов активности 11 β -гидроксилазы.

ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ МИШЕНЕЙ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ ЛЕКАРСТВ

Дымова М.А.¹, Чередниченко А.Г.², Альховик О.И.², Кечин А.А.¹,
Курильщикова А.М.¹, Петренко Т.И.², Филипенко М.Л.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук: 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «Новосибирский Научно-исследовательский институт туберкулеза» Минздрава России 630040 г.Новосибирск, ул. Охотская 81а

E-mail: maya.a.rot@gmail.com

В настоящее время серьезную проблему представляет собой появление микобактерий туберкулеза с широкой лекарственной устойчивостью. Молекулярной основой лекарственной резистентности является возникновение мутаций в генах, кодирующих белки мишени, ферменты активации и метаболизма этих препаратов. С использованием полногеномного секвенирования мы можем расширить анализируемый спектр генов, определить гены, составляющие композиционный генотип, способствующий формированию лекарственной устойчивости. Целью работы было выявить SNP, которые ассоциированы с формированием множественной лекарственной устойчивости и, наоборот, чувствительности к противотуберкулезным препаратам. Для создания библиотек были выбраны 14 изолятов *M.tuberculosis*, как чувствительных, так и устойчивых к противотуберкулезным препаратам. Полногеномное секвенирование библиотек проводилось на автоматическом секвенаторе SOLID™ («Applied Biosystems», США). С помощью программного обеспечения (SOLiD™ BioScope™ Software 1.3, «Procannot») были найдены SNP, характеризующие группу чувствительных (S), и SNP, характеризующие группу устойчивых (X) микобактерий. Далее нами был проведен анализ всех генов в данных списках. По каждому гену проводился поиск нуклеотидной последовательности, поиск литературных данных о функциях белка, экспрессируемого с данного гена, участие его в метаболических путях и возможное влияние на образование устойчивости к противотуберкулезным препаратам. Так для группы S было определено 12 SNP в 10-ти генах, кодирующих белки, которые предположительно участвуют в формировании чувствительного фенотипа. Для группы X было найдено 39 SNP, которые находятся в 24 генах, мутации в которых также могут быть ассоциированы с формированием устойчивого фенотипа. Выявленные SNP могут стать потенциальными мишенями для создания новых противотуберкулезных препаратов.

РАЗРАБОТКА ЭФФЕКТИВНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ПУРОТОКСИНА-1

Зверева И.О., Степаненко В.Н., Есипов Р.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, 117997, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

E-mail: esipov@mx.ibch.ru

Пуротоксин-1 (PT₁), впервые выделенный из яда паука *Geolycosa sp.*, состоит из 35 аминокислот. PT₁ избирательно действует на один из «триггеров» в механизме возникновения боли: PT₁ селективно ингибирует P2X₃-рецептор, который представляет собой изоформу пуринергического рецептора P2X. P2X₃-рецептор является важным звеном болевых процессов как в центральной, так и периферической нервной системе, что позволяет рассматривать PT₁ как потенциальный высокоэффективный анальгетик для купирования острой и/или хронической боли. Классическим подходом в получении рекомбинантных пептидов является их продукция в составе гибридного белка. Для получения PT₁ было создано 4 генноинженерных конструкции. В первых двух случаях в качестве лидерных белков использовали последовательности хитин-связывающего домена (CBD) и тиоредоксина с расположенным за ними сайтом расщепления TEV-протеазы. Предполагалось, что ферментативный гидролиз гибридного белка с помощью TEV-протеазы пройдет с высвобождением PT₁. Однако применение стандартного протокола не обеспечило достаточной эффективности расщепления ни в одной из конструкций. Поскольку одной из возможных причин низкой эффективности фермент-зависимого протеолиза заключалась в труднодоступности сайта расщепления протеазы, другая стратегия предполагала применение интеин-опосредованного получения PT₁ с использованием мини-интеинов DnaB из *S.species* и GygA из *M.xenopi*, содержащие хитин-связывающий домен (CBD) на N-конце. В этом случае расщепление гибридного белка происходит автокаталитически и индуцируется сдвигом pH. Сравнение двух конструкций с мини-интеинами при биосинтезе и расщеплении гибридного белка *in vivo* и *in vitro* показало, что использование конструкции с мини-интеином DnaB является наиболее предпочтительным.

Таким образом, из четырех конструкций в разработку была взята конструкция с мини-интеином DnaB с хитин-связывающим доменом на N-конце. Очистку пуротоксина-1 в составе гибридного белка осуществляли с помощью аффинной хроматографии на хитиновом сорбенте и ВЭЖХ. Разработанная схема позволяет получать 16 мг целевого продукта с литра клеточной культуры. В настоящее время нами разрабатывается технология получения рекомбинантного пуротоксина-1 с применением классической ионообменной хроматографии.

**ВЛИЯНИЕ СЛАБЫХ НИЗКОЧАСТОТНЫХ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ
НА КАЛЬЦИЙ-ЗАВИСИМЫЕ ПРОТЕИНАЗЫ СЕМЕЙСТВА
КАЛЬПАИНОВ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ И РЫБ**

Канцерова Н.П.¹, Ушакова Н.В.², Крылов В.В.², Лысенко Л.А.¹,
Немова Н.Н.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, 185910, г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук, 152742, пос. Борок, Ярославская обл.

E-mail: nkantserova@yandex.ru

Известно, что к основным мишеням воздействия слабых низкочастотных магнитных полей (МП) в живых организмах относят различные ионы, и прежде всего – ионы Ca^{2+} (Liboff, 1985; Lednev, 1991; Jenrow et al., 1995). Несмотря на то, что влияние МП на внутриклеточный Ca^{2+} и его комплексы с Ca^{2+} -связывающими белками отмечено давно (Liboff, 1985; Lednev, 1991), основные Ca^{2+} -регулируемые процессы в данном аспекте практически не исследованы. Кальпаины – внутриклеточные Ca^{2+} -зависимые протеиназы, ответственные за селективную деградацию белков в цитозоле клеток всех эукариот и ряда прокариот (Rawlings et al., 2012). Кальпаины участвуют в регуляции таких базовых Ca^{2+} -зависимых клеточных процессов, как передача сигнала, клеточный цикл, пролиферация, дифференцировка, слияние мембран транспортных везикул, формирование мышечных волокон, реализация различных путей клеточной гибели (Бондарева и др., 2006; Goll et al., 2003). Следует отметить, что влияние МП на данную ферментную систему практически не изучено. В настоящей работе исследован уровень активности кальпаинов у некоторых беспозвоночных и рыб при воздействии (прижизненном и *in vitro*) МП с параметрами резонанса для ионов Ca^{2+} , согласно интерференционной модели, предложенной В.В. Ледневым (Белова, Панчелюга, 2010). Обнаружено, что прижизненное воздействие МП с параметрами резонанса для ионов Ca^{2+} приводит к значительному снижению активности кальпаинов у исследованных организмов. Показано, что препараты Ca^{2+} -зависимых протеиназ, выделенные из беспозвоночных животных и рыб, также существенно инактивируются при действии изучаемого физического фактора. Обнаруженный феномен согласуется с интерференционной моделью действия слабых низкочастотных магнитных полей на биологические объекты.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (Соглашение № 8594, ГК № 14.740.11.1034), программы «Ведущие научные школы России» (НШ-1642.2012.4), грантов РФФИ №№ 12-04-01597-а, 12-04-31611-мол_а, 12-04-90821-мол_рф_нр.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ АНАЛОГОВ ПРИРОДНЫХ ИНГИБИТОРОВ ТРОМБИНА ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНИЗМОВ-ГЕМАТОФАГОВ

Костромина М.А., Есипов Р.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, 117997, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

E-mail: esipov@mx.ibch.ru

Успешное применение рекомбинантных аналогов природного ингибитора тромбина гирудина-1 из медицинской пиявки *Hirudomedicinalis* (дезирудина, лепирудина, бивалирудина) для терапии тромбоемболических заболеваний стало толчком к поиску новых природных высокоспецифических антикоагулянтов белковой природы, созданию их рекомбинантных аналогов и исследованию их антитромботического потенциала.

Данная работа посвящена получению и исследованию рекомбинантных аналогов нескольких природных ингибиторов тромбина прямого действия: гаемадина из пиявки *Haemadipsasylvestris*, анофелина из комара *Anophelesalbimanus* и вариегина из клеща *Amblyommavariegatum*. При экспрессии созданных нами генно-инженерных конструкций целевые полипептиды синтезировались в составе гибридных белков на N- или C-конце модифицированного мини-интеина GyrA из *Mycobacteriumxenopi*. В случае анофелина и гаемадина интеин использовался в качестве N-концевого белка-носителя, а расщепление этих гибридных белков было pH-зависимым. Использование аналогичной конструкции для выделения вариегина, содержащего на N-конце остаток серина, было невозможно. Поэтому его получали на N-конце гибридного белка, а расщепление индуцировалось тиол-содержащим реагентом. Для получения всех трех полипептидов нами была разработана единая методика, включающая этапы очистки и расщепления гибридного белка и выделение целевого продукта с помощью анионообменной хроматографии и ОФ ВЭЖХ. Исследование антитромботической активности полученных рекомбинантных аналогов было проведено с использованием амидолитического теста, основанного на способности тромбина к гидролизу специфического хромогенного субстрата. На основании полученных кинетических кривых скорости накопления p-нитроанилина в зависимости от присутствия ингибитора были рассчитаны антитромботические активности исследуемых полипептидов: вариегина–674 АТУ/мг, анофелина– 3363 АТУ/мг, гаемадина– 17616 АТУ/мг. По своим ингибирующим свойствам гаемадин является наиболее близким к полученному нами ранее рекомбинантному аналогу гирудина-1 с антитромботической активностью 19802 АТУ/мг.

**ПЕПТИД ДЕЛЬТА-СНА В ПРОФИЛАКТИКЕ
ПРЕЖДЕВРЕМЕННОГО СТАРЕНИЯ ОРГАНИЗМА**Кутилин Д.С.¹, Бондаренко Т.И.¹, Михалева И.И.²¹*Южный федеральный университет, 344006 г. Ростов-на-Дону,
ул. Б.Садовая д.105/42*²*Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, 117997, г. Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10**e-mail: d-kyt11@ro.ru*

Изучение свойств разнообразных регуляторных пептидов показало, что они могут быть наиболее перспективными фармакологическими средствами в плане замедления возрастных и стресс-индуцированных изменений в организме. Одним из таких пептидов является пептид дельта-сна (дельта-сон индуцирующий пептид, ДСИП), имеющий следующий аминокислотный состав - WAGGDASGE. В многолетних исследованиях была установлена способность ДСИП стимулировать активность антиоксидантных ферментов, в том числе супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы, снижающуюся при старении. В связи с отсутствием четких представлений о молекулярных механизмах реализации этой способности, нами проведено изучение влияния ДСИП на профиль экспрессии соответствующих генов в мозге и крови крыс при физиологическом старении организма методом полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Эксперимент выполнен на белых крысах - самцах *Rattus norvegicus* (alba) в возрасте 2-24-х месяцев. Нами показано, что введение ДСИП животным в течение жизни, начиная с 2-х месячного возраста, ежемесячно курсами по 5 последовательных дней в дозе 100 мкг/кг массы тела животного приводит к статистически значимому увеличению экспрессии генов супероксиддисмутазы 1 и глутатионпероксидазы 1 в мозге и крови крыс. При этом максимальное увеличение экспрессии супероксиддисмутазы 1 под влиянием ДСИП приходится на поздние этапы онтогенеза и в мозге, и в крови крыс, а глутатионпероксидазы 1 только в крови крыс. Корреляционный анализ показал наличие положительной взаимосвязи между изменениями профилей экспрессии супероксиддисмутазы 1 и глутатионпероксидазы 1 у животных, получавших ДСИП, что позволяет сделать вывод о однонаправленном и, вероятно, реализуемом по сходным механизмам воздействии пептида на экспрессионные характеристики исследуемых генов в клетках мозга и ядродержащих клетках крови крыс. Таким образом, очевидно, что, стимулируя активность соответствующих генов антиоксидантных ферментов, ДСИП повышает ёмкость антиоксидантной системы, поддерживая тем самым адаптационные возможности организма, что в итоге приводит к снижению риска развития ряда патологических состояний, свойственных пожилому возрасту.

РАЗРАБОТКА НОВОГО АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА ПРОТИВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ПАТОГЕНОВ НА ОСНОВЕ ЭНДОЛИЗИНА БАКТЕРИОФАГА S-394

Легоцкий С.А.¹, Власова К.Ю.¹, Прийма А.Д.¹, Мирошников К.А.², Кабанов А.В.¹, Клячко Н.Л.¹

¹Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, 119991, Москва, Ленинские Горы, д.1, стр.11.

²Институт Биоорганической Химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10.

Email: slegotsky@enzyme.chem.msu.ru

Эндолизины бактериофагов – это ферменты, катализирующие гидролиз пептидогликана бактериальной клеточной стенки на конечной стадии цикла развития литических фагов. Эндолизины обладают высокой активностью по отношению к патогенной микрофлоре, устойчивой к традиционным антибиотикам, что позволяет их рассматривать в качестве альтернативных антибактериальных агентов. Однако применение эндолизинов ограничено в случае грамотрицательной микрофлоры, так как пептидогликан таких бактерий экранирован внешней липидной мембраной, что делает невозможным лизис «извне».

Данная работа посвящена изучению свойств эндолизина Lys394 бактериофага S-394, специфичного по отношению к бактериям семейства Enterobacteriaceae и оценке эффективности совместного использования Lys394 и различных веществ, увеличивающих проницаемость внешней мембраны, для лизиса *E. coli*.

Рекомбинантный Lys394 был синтезирован в *E. coli* C41(DE3) и очищен до гомогенного состояния посредством Ni²⁺-аффинной хроматографии. Молекулярная масса фермента, определенная с помощью SDS-электрофореза, составила 18 кДа, изоэлектрическая точка близка к 7,0. В растворе Lys394 присутствует в виде мономера, что подтверждено гель-фильтрацией. Зависимость скорости лизиса *E. coli*, обработанных хлороформом, от концентрации Lys394 описывается характерно кривой с насыщением. Максимальная ферментативная активность проявляется в диапазоне pH от 7,5 до 9 при низкой ионной силе.

Показано, что Lys394 способен лизировать живые планктонные клетки *E. coli* в присутствии веществ катионной природы: 10-20 мкг/мл полиаргинина (5-15 кДа), 30-50 мкг/мл сополимера Lys₃₀-PEG₁₄ или 10-20 мкг/мл пептида PGLa. Увеличение проницаемости внешней мембраны *E. coli* под действием этих агентов было доказано с помощью детекции активности периплазматической бета-лактамазы в растворе.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства РФ № 11.G34.31.0004.

МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Марданова А.М.¹, Замалютдинова Н.М.¹, Гилязева А.Г.¹, Богомольная Л.М.²

¹Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18

²Техасский аграрно-технический университет, Техас, США

E-mail: mardanovaayslu@mail.ru

Условно-патогенные бактерии семейства *Enterobacteriaceae* способны вызывать гнойно-воспалительные процессы различной локализации. Мало данных о роли в патогенезе оппортунистических инфекций внутриклеточных протеиназ – ферментов, ответственных за адаптацию протеома клетки к изменяющимся условиям.

Был проведен биоинформационный поиск генов-ортологов металлопротеиназы гримелизина (*Serratia grimesii*) в геномах условно-патогенных энтеробактерий. Использовали базы данных NCBI, ColiBase, Sanger, Asap, программы Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). (<http://asap.ahabs.wisc.edu/>). В геномах различных энтеробактерий найдены гены-ортологи гримелизина с гомологией до 60-90 %. Была исследована внутриклеточная протеолитическая активность в клетках разных штаммов энтеробактерий (*Morganella morganii*, *Providencia sp.*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella tiphymurium*, *Pantoea vagans* и др.). Активность в клеточных экстрактах 24 и 48 час бактерий определяли по расщеплению азоказеина, зимографии в ПААГ с желатином и ограниченному расщеплению скелетно-мышечного актина. Зимография в ПААГ с желатином выявила зоны с протеолитической активностью в клеточных экстрактах (не менее 3-4 зон расщепления желатина). Характер распределения зон расщепления желатина и интенсивность у разных видов бактерий различается. Из всех исследуемых бактерий только клеточный экстракт *P. vagans* расщеплял актин ограниченно с образованием 36 кДа фрагмента. Экстракты остальных бактерий расщепляли актин неограниченно. Из клеток *M. morganii* KN58 была частично очищена внутриклеточная протеиназа методом сульфатаммонийного фракционирования и гидрофобной хроматографии на фенил-сефарозе 6 FF (high sub). Фракция белка с максимальной протеолитической активностью элюировалась с колонки при концентрации сульфата аммония равной 15% насыщения. Были сконструированы праймеры к последовательности гена металлопротеиназы *P. vagans* и с геномной ДНК *P. vagans* получен ПЦР-продукт длиной около 1000 н.о., что соответствует длине гена металлопротеиназы.

Работа поддержана Федеральной целевой программой «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2012-2013 гг. соглашение № 14.А18.21.1118.

АУТОТРАНСПОРТЕР ЛИПАЗЫ *PSYCHROBACTER CRYOHALOLENTIS* K5^T: ХАРАКТЕРИСТИКА И ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ КЛЕТОЧНОГО ДИСПЛЕЯ

Петровская Л.Е.¹, Крюкова Е.А.¹, Свирщевская Е.В.¹,
Новотоцкая-Власова К.А.², Ривкина Е.М.², Долгих Д.А.^{1,3}

¹Институт биоорганической химии имени М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

²Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, 142290, г. Пушкино Московской области

³Московский Государственный Университет им. М.В.Ломоносова, Биологический факультет, 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

E-mail: lpetr65@yahoo.com

Семейство аутотранспортёров (АТ) включает в себя белки, локализованные во внешней мембране Грам-отрицательных бактерий. Они состоят из N-концевого «пассажирского» и С-концевого «якорного» доменов, соединённых альфа-спиральным линкером. «Якорный» домен АТ может быть объединён с другими N-концевыми партнёрами для их дисплея на клеточной поверхности.

Кодирующая последовательность потенциального АТ была обнаружена в геноме психротрофного микроорганизма *Psychrobacter cryohalolentis* K5^T, выделенного из криопэга в вечномерзлом грунте Колымской низменности. На основании гомологии аминокислотных последовательностей установлено, что его «пассажирский» домен представлен липазой, относящейся к семейству GDSL. Проведено клонирование гена АТ и его экспрессия в клетках *E. coli*. Исследование липолитической активности штамма-продуцента показало, что АТ эффективно экспонируется на поверхности клеток. Сконструированы гены гибридных белков, содержащих различные «пассажирские» домены, в том числе 10 домен фибронектина человека (¹⁰Fn3), флуоресцентный белок mCherry, эстеразу EstPc *P. cryohalolentis* K5^T. Показано, что использование «якорного» домена АТ *P. cryohalolentis* K5^T является эффективным способом экспонирования различных белков на клеточной поверхности. Разработан подход к повышению уровня дисплея ¹⁰Fn3 при помощи совместной экспрессии с EstPc. Полученные конструкции могут быть использованы, в частности, в белковой инженерии комбинаторных библиотек на основе ¹⁰Fn3 и цельноклеточных биокатализаторов с активностью эстеразы.

Работа проводится при финансовой поддержке гранта НШ-5597.2012.4 и программы РАН «Молекулярная и клеточная биология».

**ПЕПТИДАЗЫ И ИНГИБИТОРЫ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ
ФЕРМЕНТОВ, СЕКРЕТИРУЕМЫЕ ЭНТОМОПАТОГЕННЫМ
ГРИБОМ *TOLYPOCLADIUM CYLINDROSPORUM* W. GAMS**

Попова В.В.², Белякова Г.А.², Дунаевский Я.Е.¹, Белозерский М.А.¹

¹НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ,
Москва 11999, Ленинские горы, д. 1, стр. 40

²Биологический факультет МГУ, Москва 119992, Ленинские горы, д. 1, 12

E-mail: mbeloz@belozersky.msu.ru

Протеолитические ферменты участвуют в важнейших физиологических процессах, как на уровне отдельной клетки, так и на уровне целого организма. В таких процессах, как правило, задействованы каскады быстрых и часто необратимых протеолитических реакций, контроль которых – необходимый компонент работы клетки. Регуляция этих реакций осуществляется на различных уровнях, в том числе, с помощью ингибиторов ферментов. С целью изучения регуляции активности секретлируемых пептидаз грибов проведено исследование активности внеклеточных пептидаз и ингибиторов протеолитических ферментов у представителей порядка Нурocreales, позволившее идентифицировать вид *Tolyposcladium cylindrosporium* с высокой ферментативной и ингибиторной активностью. Из культуральной жидкости гриба *T. cylindrosporium* получен высокоочищенный препарат субтилизиноподобной пептидазы с молекулярной массой 95 кДа и исследованы его свойства. В той же культуральной жидкости обнаружен также ингибитор субтилизина – белок с молекулярной массой 45 кДа, который однако не ингибировал активность собственного субтилизиноподобного фермента гриба, но обладал сильными антибиотическими свойствами, препятствуя росту бактерий *Pseudomonas* sp., и значительно снижал активность очищенных секретлируемых бактериальных ферментов. Показан рост ингибиторной активности при росте энтомопатогенного гриба *T. cylindrosporium* на среде с добавлением специфичного субстрата – личинок комаров – свидетельствующий о возможном участии ингибиторов пептидаз в процессе патогенеза. Полученные результаты указывают на то, что исследуемый ингибитор, с одной стороны, может быть участником патогенного процесса, а с другой, может осуществлять защиту как мицелия гриба, так и его пищевых ресурсов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты 12-04-01506, 12-04-90017-Бел, 13-04-00970) и МНТЦ (грант 3455).

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ СИГНАЛЬНЫХ ПЕПТИДОВ В
КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ *SERRATIAGRIMESII***

Романова Ю.Д., Марданова А.М.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет», 420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18

E-mail: magnolina@list.ru

В настоящее время намечается тенденция к увеличению числа случаев заболевания оппортунистическими инфекциями. Одними из возбудителей таких инфекций являются бактерии рода *Serratia*. Представители этого рода могут вызывать широкий спектр болезней – от инфекций мочевыводящей системы до пневмонии (Mahlen, 2011). В настоящей работе в качестве объекта исследований была выбрана *Serratia grimesii*. Целью работы было исследование нуклеазной активности *Serratia grimesii* и поиск сигнальных молекул в среде роста.

В культуральной жидкости *Serratia grimesii* обнаружена высокая нуклеазная активность в отношении ДНК. Исследовали динамику роста и накопления в среде внеклеточной нуклеазы. Культура выходит на стационарную фазу роста на 16 час культивирования. Фермент появляется в незначительном количестве в экспоненциальной фазе. Максимальная нуклеазная активность наблюдается на 20-26 час роста культуры. При добавлении в реакционную смесь $MgSO_4$ в концентрации 1 и 5 мМ нуклеазная активность возрастала более чем в 2 раза. Полученный результат согласуется с литературными данными о внеклеточной нуклеазе *Serratia marcescens*, чувствительной к ионам Mg (Филимонова и др., 1997). Известно, что секреция экзоферментов коррелирует с накоплением в культуральной жидкости сигнальных молекул класса гомосеринлактонов (Houdtetal., 2007).

Для идентификации сигнальных молекул получали хлороформенный экстракт суточной культуральной жидкости. С помощью метода ГХ-МС в масс-спектре экстракта были обнаружены вещества с сигналами, характерными для циклических дипептидов LPro-LPhe(m/z 91, 125, 153, 244), LPro-LLeu(m/z 86, 125, 154, 210). В масс-спектре хлороформенного экстракта питательной среды циклические дипептиды обнаружены не были. Ранее циклические дипептиды (дикетопиперазины) были обнаружены в среде роста *P. aeruginosa*, *E. coli* и *Salmonella* spp. Предположительно, дикетопиперазины участвуют во взаимодействии прокариотс зукариотическими клетками (Holdenetal., 2000).

Работа поддержана грантом ФЦП, соглашение № 14.А18.21.1516.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА СВОЙСТВА ХИТОЗАНОВЫХ МИКРОСФЕР С ВКЛЮЧЕННЫМ БЕЛКОМ

Седякина Н.Е., Авраменко Г.В.

*Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева
125480, г. Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 20*

E-mail: nsedyakina@mail.ru

Разработка систем пероральной доставки инсулина вызывает повышенный интерес исследователей в связи с возможностью отказаться от инъекционной формы введения, имеющей ряд недостатков, таких как болезненные ощущения пациента и риск инфицирования. В качестве систем контролируемой доставки лекарственных веществ могут быть использованы различные носители на основе биоразлагаемых полимеров. К ним относят наносферы, микрочастицы, микросферы, микрокапсулы.

Хитозан – биосовместимый, биodeградируемый, мукоадгезивный полимер и благодаря этим свойствам является одним из перспективных природных биополимеров для создания систем контролируемой доставки протеинов и пептидных лекарств. Хитозановые микросферы, содержащие инсулин, были получены на основе эмульсий вода/парафиновое масло, стабилизированных неионогенными поверхностно-активными веществами (ПАВ) ряда полиглицерил полирицинолеатов, с последующим отверждением сшивающим агентом. Было показано, что повышение концентрации ПАВ в эмульсии от 1 до 4% масс. способствует снижению средних размеров частиц, однако не оказывает значительного влияния на эффективность включения и скорость высвобождения белка. Было установлено, что полиглицерил-6-полирицинолеат является более подходящим поверхностно-активным веществом по сравнению с полиглицерил-10-полирицинолеатом, поскольку позволяет получить менее агрегированные образцы микросфер, с большей эффективностью включения белка и способных в большей степени удерживать инсулин внутри хитозановой матрицы.

**ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ПЕПТИДАЗЫ ГРИБОВ, ОБРАЗУЮЩИХ
РАЗЛИЧНЫЕ БИОТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ**

Семенова Т.А.², Белякова Г.А.², Белозерский М.А.¹, Шамрайчук И.Л.³,
Дунаевский Я.Е.¹

¹*НИИ физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского МГУ, Москва 119992*

²*Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ, Москва 119992*

³*Биологический факультет МГУ, Москва 119992*

E-mail: dun@belozersky.msu.ru

Поддержание биотических связей грибов и других представителей биоты в значительной степени определяется функционированием различных химических соединений и, в частности, пептидаз, секретируемых грибами. Расщепление белковых субстратов внеклеточными пептидазами обеспечивает питание мицелия; во многих мутуалистических системах гидролитические ферменты гриба расщепляют субстраты, недоступные для собственного ферментативного аппарата насекомых. Ключевая роль протеолитических ферментов показана и в процессах фито- и энтомопатогенеза. Синтез и секреция пептидаз клетками гриба является энергоемким процессом, что обуславливает образование ферментов, максимально адаптированных к условиям обитания мицелия. Поэтому различия в спектре пептидаз, секретируемых мицелием гриба, развивающимся в составе разнообразных биотических систем, косвенно отражают экологические и метаболические особенности грибов. Настоящее исследование, посвященное поиску связей между различными экологическими и таксономическими группами грибов и спектром секретируемых ими пептидаз, позволило выявить корреляцию между спектром секретируемых протеолитических ферментов и таксономическим положением мицелиальных грибов. При этом, изученные виды аскомицетов секретируют преимущественно сериновые протеиназы со щелочным рН-оптимумом 7,6-9,0, а виды базидиомицетов – металлопротеиназы с рН оптимумом 5,5-7,1. Анализ связи между субстрат-специфичной активностью секретируемых пептидаз и принадлежностью грибов к определенным трофическим группам показал, что присутствие в культуральной жидкости секретируемых ферментов с высокой трипсиноподобной активностью характерно для грибов – энтомо- и фитопатогенов, в то время как преобладание ферментов с аминопептидазной активностью может служить маркером сапротрофов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты 12-04-01506, 12-04-90017-Бел, 13-04-00970) и МНТЦ (грант 3455).

**ВЛИЯНИЕ СТЕПЕНИ БИОДЕСТРУКЦИИ ПОЛИМЕРОВ
ДРОЖЖЕВОЙ КЛЕТКИ НА ФРАКЦИОННЫЙ СОСТАВ И
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОЛИЗАТОВ
ДРОЖЖЕВОЙ БИОМАССЫ**

Серба Е.М., Рачков К.В., Орлова Е.В., Римарева Л.В.,
Погоржельская Н.С.

*Государственной научное учреждение ВНИИ пищевой биотехнологии
Россельхозакадемии, г. Москва, ул. Самокатная, 4б*

E-mail: serbae@mail.ru

С использованием подобранной ферментативной системы проведена направленная биокаталитическая деструкция субклеточных структур дрожжевой биомассы *Saccharomyces cerevisiae* и наработаны экспериментальные образцы ферментолизатов с различной степенью конверсии внутриклеточных полимеров. Полученные ферментолизаты различались по биохимическому и фракционному составу: в препарате-І белки дрожжевой протоплазмы были подвергнуты частичному гидролизу до пептидов с различной молекулярной массой (ММ), при этом 70% составляли пептиды 700-1500 Да аминный азот -220мг%; препарат ІІІ характеризовался наиболее высокой степенью деполимеризации белковых веществ клетки и содержал 90,9% свободных аминокислот и низкомолекулярных пептидов с ММ менее 300 Да, 890 мг% аминного азота, что в 1,8 раза превышало показатель препарата ІІ; препарат ІІ отличался более высоким содержанием (60%) низкомолекулярных пептидов от 300 до 700 Да, и более низким - свободных аминокислот - 10% от общей массы белковых веществ. Препараты различались по своим функциональным свойствам. Медико-биологические исследования показали, что препарат І перспективен для использования как легкоусвояемый белково-аминокислотный обогатитель пищи; препараты ІІ и ІІІ в лечебно-профилактическом питании: препарат ІІ - в качестве специфического антиоксиданта в комплексной терапии патологий, связанных с генерализованным оксидативным стрессом, а также как регулятор Са-зависимых процессов в стволовых клетках при иммунодепрессивных патологиях; препарат ІІІ - при создании специального питания для онкологических больных, т.к. проявил селективную цитотоксичность по отношению к различным типам перевиваемых опухолей, вызывая активацию каспазы-3 в исследованных культурах клеточных линий опухолевых клеток. Таким образом, регулируя ферментативные системы и условия биокатализа дрожжевой клетки, можно получать биологически активные добавки с заданными структурно-функциональными свойствами.

Исследования выполнены при поддержке гранта президента РФ для ведущих научных школ НШ-7127.2012.

**НОВАЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ФИТАЗА ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ:
ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА**

Сулейманова А.Д.¹, Данилова Ю.В.¹, Грайнер Р.², Шарипова М.Р.¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, Казань,
ул. Кремлевская, д.18;

²Институт Макса Рубнера, Карлсруэ, Германия, 76131 Карлсруэ,
Haid-und-Neu-Str. 9

E-mail: Aliya.kzn@gmail.com

В настоящее время мио-инозитфосфаты привлекают внимание биотехнологов с целью применения в медицине, что служит основанием для поиска новых технологий получения этих соединений. Альтернативой химическому синтезу может быть получение инозитфосфатов с использованием специфических бактериальных ферментов - фитаз. Фитазы гидролизуют мио-инозитгексакисфосфаты последовательно и специфично и перспективны для получения индивидуальных мио-инозитфосфатов вместо методов химического синтеза. Цель исследования - разработка эффективного способа получения и очистки миоинозитгексафосфат-гидролизующего микробного фермента *Pantoea vagans* 3.2 и исследование его физико-химических свойств.

Для получения максимального выхода внутриклеточных белков *P. vagans*. подбирали оптимальный метод разрушения бактериальных клеток. Клетки подвергали замораживанию-оттаиванию, действию лизоцима и ультразвука, и их комбинации. В результате оптимальным методом разрушения клеток *P. vagans*. нами выбрана комбинация методов замораживания-оттаивания и ультразвуковой обработки, которая позволила получить из 2 г биомассы белок с максимальной удельной активностью 2.5 x 10⁻³ ед.акт./мг.

Быстрым и эффективным методом разделения белковых смесей является высокоэффективная жидкостная хроматография. Этот вид хроматографии на колонках MonoS HR 5/5 и MonoQ HR 5/5 с последующей гель-фильтрацией на колонке 16/60 Sephacryl S-100 HR мы использовали для очистки фитазы *P. vagans*. В результате очистки клеточных лизатов бактерий получили препарат фитазы со степенью очистки, равной 474 и выходом по активности 21.5%. Гомогенность белка установлена электрофорезом в 12.5% ПААГ, который показал наличие одного полипептида с молекулярной массой 46 кДа.

Далее мы исследовали физико-химические свойства фитазы *P. vagans*. Оптимум pH действия фитазы установили равным pH 4.5. Температурный оптимум исследуемой фитазы составил 37°C.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение №14.132.21.1786 от 01.10.2012 г. и грантом РФФИ 12-08-00942а.

ТЕТРАПЕПТИД СТИМУЛИРУЕТ ЭКСПРЕССИЮ NO-СИНТАЗЫ ПРИ СТАРЕНИИ КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Тарновская С.И., Трофимова С.В.

*Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии 197110,
г. Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3*

E-mail: miayu@yandex.ru

Одним из молекулярных механизмов развития сахарного диабета у лиц старшей возрастной группы является снижение экспрессии NO-синтазы (NOS-3), стимулирующей активность β -клеток поджелудочной железы. Установлено, что тетрапептид Lys-Glu-Asp-Trp нормализует функциональную активность β -клеток поджелудочной железы при старении.

Целью работы явилось изучение влияния тетрапептида на экспрессию фермента NO-синтазы в культурах клеток поджелудочной железы человека при старении.

Исследование проводили на культурах клеток поджелудочной железы человека MIA PaCa-2. 1-й пассаж расценивали как «молодые» культуры, 7-й пассаж как «зрелые» и 14-й пассаж как «старые» культуры. Культуры разделили на 2 части: 1 (контрольная группа) – введение физиологического раствора, 2 – введение тетрапептида (20 нг/мл). Клетки культивировали в стандартных условиях (5% CO₂, ДМЕМ, L-глутамин, 15% FBS, 1% пенициллин-стрептомицин). Для исследования методом иммуноцитохимии использовали первичные моноклональные антитела к NOS-3 (1:40, Novosactra). Оптическую плотность экспрессии оценивали морфометрическим методом (микроскоп Nikon Eclipse E400, цифровая камера Nikon DXM1200, программа «Videotest Morphology 5.2»).

В «молодых» культурах клеток поджелудочной железы введение тетрапептида приводило к статистически значимому повышению оптической плотности экспрессии фермента NOS-3 в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой (0,8±0,01 у.е.). В «зрелых» культурах оптическая плотность экспрессии NOS-3 под влиянием тетрапептида достоверно повысилась в 1,2 раза по сравнению с контрольной группой. В «старых» культурах на фоне влияния тетрапептида наблюдалось увеличение оптической площади экспрессии NOS-3 в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, тетрапептид стимулирует экспрессию сигнальной молекулы NOS-3, которая способствует стимуляции функциональной активности β -клеток поджелудочной железы при их старении, что лежит в основе сахароснижающего действия данного тетрапептида.

ПОЛУЧЕНИЕ АКТИНОПОРИНОВ МУЛЬТИГЕННЫХ НСТ-А И НСТ-S СЕМЕЙСТВ АКТИНИИ *HETERACTIS CRISPA*

Ткачева Е.С., Лейченко Е.В., Монастырская М.М., Зелепуга Е.А.,
Исаева М.П., Козловская Э.П.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова
Дальневосточного отделения РАН, 690022,
г. Владивосток, пр. 100 лет Владивостоку, 159*

E-mail: estkacheva@gmail.com

В последние годы определенное внимание ученых направлено на изучение многообразия пороформирующих токсинов актиний (актинопоринов). Показано, что в одной актинии присутствует несколько изоформ актинопоринов (Anderluh et al., 1996; Wang et al., 2008). Установлено, что каждый актинопорин, продуцируемый одним видом актинии, кодируется своим собственным геном и принадлежит к мультигенному семейству. Целью данной работы было получение мультигенных семейств актинопоринов *Heteractis crispa*.

Установлены нуклеотидные последовательности генов и на их основе выведены аминокислотные последовательности 42 актинопоринов, принадлежащих к двум высокомолекулярным мультигенным семействам, с N-концевыми остатками аланина (Нст-А семейство) и серина (Нст-S семейство). Последовательности актинопоринов различались единичными аминокислотными заменами, большинство из которых у представителей обоих семейств приходилось на N-концевой фрагмент молекулы, принимающий непосредственное участие в порообразовании.

Проведен филогенетический анализ всех известных аминокислотных последовательностей актинопоринов. Показано, что на филогенетическом древе актинопорины объединялись в семь кластеров. Представители семейств Нст-А и Нст-S не формировали собственных, а входили в состав одних и тех же кластеров. Основываясь на высокой степени идентичности последовательностей актинопоринов актиний *H. crispa* и *Heteractis magnifica* (86–99%), мы предположили, что дивергенция актинопоринов семейства Stichodactylidae произошла до разделения видов на *H. crispa* и *H. magnifica*.

Созданы экспрессионные конструкции и в результате экспрессии получено семь рекомбинантных форм актинопоринов (rНст-A2, rНст-A3, rНст-A4, rНст-A5, rНст-S3, rНст-S5 и rНст-S6), различающихся молекулярными массами, значениями изоэлектрических точек, количеством и локализацией заряженных аминокислотных остатков N-концевых функционально значимых фрагментов, а также величинами гемолитической активности.

**ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ЭКЗОБЕЛКОВ НА ОСНОВЕ
НОВОЙ ОПТИМИЗИРОВАННОЙ ЭКСПРЕССИОННОЙ СИСТЕМЫ
*BACILLUS SUBTILIS***

Тойменцева А.А., Шарипова М.Р.

*Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего профессионального образования «Казанский (Приволжский)
федеральный университет», 420008 г. Казань, Кремлевская, 18*

E-mail: TojmencevaAA@mail.ru

Получение сериновых протеиназ бактерий имеет стратегическое значение для многих отраслей народного хозяйства, что объясняет их интенсивное изучение, многочисленные попытки поиска стабильного продуцента и создание эффективных экспрессионных систем. На сегодняшний день стратегия использования экспрессионных систем является наиболее оправданной, т.к. позволяет быстро получить высокий уровень белка. Однако до сих пор нет эффективной системы экспрессии для получения рекомбинантных экзобелков. Это связано с неэффективностью секреции, незначительным выходом целевого белка, неспецифическим протеолизом и токсичностью самих белков для клетки.

Целью данного исследования явилась оптимизация новой LIKE-системы экспрессии *Bacillus subtilis* для стабильного получения экзоферментов. В качестве модельных белков нами были выбраны субтилизиноподобная протеиназа (ArgVp) и глутамилэндопептидаза (GseVp) бактерий *B. pumilus*. Эти ферменты хорошо изучены и показывают особенный потенциал в борьбе с тромбообразованиями (Данилова и др., 2012). LIKE-система экспрессии выбрана в связи с тем, что она позволяет: 1. получать продукты генов как в составе хромосомы, так и в составе отдельной репликационной единицы; 2. добиться 100-1000 кратного уровня экспрессии генов в течение 5-30 мин после индукции; 3. использовать большое разнообразие индукторов (антибиотики, органические растворители, детергенты, этанол), при этом базальный уровень экспрессии отсутствует в неиндуцированных условиях (Тоументсева et al., 2012). LIKE-система основана на P_{liaI} промоторе *lia*-регулона *B. subtilis*, который реагирует на присутствие антибиотиков, нарушающих целостность клеточной стенки. Стратегия оптимизации основана на подборе сильных сигнальных пептидов (sp_{Asp} , sp_{Pac} , sp_{YngK}) *B. megaterium*, которые подтвердили свою эффективность в отношении продукции термофильной гидролазы *Thermobifida fusca* (в 6 раз) (Stammen et al., 2010). Такая оптимизация в сочетании с беспротеазными штаммами позволит улучшить выход белков для производства индустриально-важных ферментов.

Работа выполнена при финансовой поддержке федеральной целевой программы "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" на 2009-2013 гг. ГК № 16.740.11.0741.

АНТИДЕПРЕССАНТНЫЕ СВОЙСТВА ПЕПТИДОВ И ИХ РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ КАЛЬМОДУЛИНА

Умнов Р.С., Линькова Н.С., Проняева В.Е.

*Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии 197110
г. Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3*

E-mail: miayu@yandex.ru

Депрессия является одним из наиболее распространенных психических заболеваний, существенно снижающих качество жизни пациента, а большинство антидепрессантов обладают побочными эффектами. Молекулярным механизмом развития депрессии является нарушение процесса постсинаптической передачи, важным звеном которой служит регуляторный белок кальмодулин. Кратковременное увеличение концентрации ионов кальция в клетке и его связывание с кальмодулином активирует Ca^{2+} -кальмодулинзависимую протеинкиназу II, фосфорелирующую AMPA-рецепторы, участвующие в постсинаптической передаче. Целью исследования явилось изучение влияния пептидных биорегуляторов на синтез кальмодулина в культурах нейронов животных разного возраста.

В опыте использовали органотипические культуры клеток коры головного мозга молодых (3 мес.) и старых (24 мес.) крыс Wistar, разделённые на контрольную – без добавления пептида и 2 экспериментальные группы – с введением пептидного экстракта кортексина (20 нг/мл) и трипептида Т-33 (0,05 нг/мл). После 3-дневного культивирования (37°C, 5% CO₂) клетки окрашивали методом иммуноцитохимии. Первичными антителами служили моноклональные антитела к маркеру кальмодулина, вторичными – набор биотинилированных иммуноглобулинов.

Под действием трипептида Т-33 экспрессия кальмодулина в культуре нейронов старых животных увеличивалась в 2,5 раза по сравнению с контролем. Кортексин увеличивал экспрессию кальмодулина в культурах нейронов молодых и старых крыс соответственно в 4 и в 3,5 раза.

Таким образом, пептидные биорегуляторы кортексин и Т-33 стимулируют синтез кальмодулина в культурах клеток коры головного мозга животных разного возраста, что является молекулярным механизмом их антидепрессантного эффекта.

**РОЛЬ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ В ФОРМИРОВАНИИ
УСТОЙЧИВОСТИ К ОБЕЗВОЖИВАНИЮ У СПЯЩЕЙ
ХИРОНОМИДЫ *POLYPEDILUM VANDERPLANKI***

Шагимарданова Е.И.¹, Шарипова М.Р.¹, Захаров И.С.¹, Кикавада Т.²,
Гусев О.А.^{1,2}

¹Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего профессионального образования «Казанский (Приволжский)
федеральный университет», 420008 г. Казань, Кремлевская, 18

²Национальный Институт агробиологических наук, Япония, Цуцуба

E mail: rjuka@mail.ru

Протеолитические ферменты являются одной из наиболее интенсивно изучаемых групп ферментов и широко используемых в медицине и фармакологии. Источником большинства используемых в настоящее время протеиназ являются микроорганизмы, в том числе, патогенной природы. Таким образом, поиск новых активных протеиназ, демонстрирующих высокую биологическую активность с потенциалом применения является актуальной задачей современной биологии. Наиболее эффективным подходом в поиске новых активных белков является полногеномный скрининг организмов. Потенциальным источником новых протеиназ являются организмы, способные выживать в экстремальных условиях среды.

Для идентификации генов, кодирующих протеолитические ферменты спящей хирономиды *Polypedilum. vanderplanki*, мы провели скрининг полного генома. Этот организм обладает уникальным фенотипом на личиночной стадии – способностью сохранять жизнеспособность при полном отсутствии воды. Было выявлено более 300 последовательностей генов, открытые рамки считывания которых указывают на пептидазную активность соответствующих белков. Для установления роли протеиназ в процессе криптобиоза мы провели анализ транскрипции соответствующих генов в условиях высыхания и последующей регидратации методом RNA-Seq. Процесс был условно разделен на 5 стадий: D0 – активные личинки, D24 – криптобиоз индуцирован, D48 – полный криптобиоз, R3 – 3 часа после добавления воды, R24 – 24 часа после добавления воды. Было идентифицировано несколько генов, кодирующих сериновые, цистеиновые и металлопротеиназы, уровень экспрессии которых увеличивался при криптобиозе. Среди этих генов, экспрессия гена, условно обозначенного как Pv00723, увеличивалась более чем в 500 раз. Это позволяет предположить его роль в формировании устойчивости хирономиды к высыханию.

Работа поддержана грантом Российского Фонда Фундаментальных Исследований № 12-04-97071-р_поволжье.

БЕЛОК CP60 ЯВЛЯЕТСЯ КОМПОНЕНТОМ SU(HW)-ЗАВИСИМОГО ИНСУЛЯТОРНОГО КОМПЛЕКСА DROSOPHILA MELANOGASTER

Шаповалов И.С., Мельникова Л.С., Костюченко М.В., Головнин А.К.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук (ИБГ РАН), 119334, г. Москва, ул. Вавилова, д.34/5

E mail: igor.shapovalov.193.5@gmail.com

Белок CP60 был обнаружен нами в двугибридном скрининге против компонента инсуляторного комплекса белка CP190. Белок CP60 содержит MADF домен, ранее обнаруженный у некоторых белков, участвующих в регуляции транскрипции и необходимый для связывания с ДНК, а также специфический С-концевой домен. Основной целью работы являлось подробное изучение механизма взаимодействий между белком CP60 и основными компонентами инсулятора Su(Hw): белками Su(Hw), CP190 и Mod(mdg4)67.2. С помощью дрожжевой двугибридной системы было показано, что белок CP60 напрямую взаимодействует с белком CP190, но не взаимодействует с белками Su(Hw) и Mod(mdg4)67.2. Чтобы выяснить, способен ли белок CP60 взаимодействовать с ДНК *in vitro*, был использован метод задержки в геле комплекса ДНК-белок (EMSA). В качестве тестируемых инсуляторов, были выбраны инсулятор Su(Hw) из ретротранспозона *МДГ4* и эндогенный инсулятор из локуса 1A2, содержащий два сайта связывания белка Su(Hw). Белок CP60 взаимодействует с этими последовательностями и не взаимодействует с кодирующей белок последовательностью из гена *mod(mdg4)*. Для изучения свойств белка CP60 *in vivo* были созданы конструкции, экспрессирующие данный белок совместно с FLAG-эпитопом в культуре клеток S2 и имагинальных дисках личинок *Drosophila melanogaster*. С помощью метода X-ChIP было проверено взаимодействие белка CP60-FLAG с инсуляторами, которые были использованы в предыдущем эксперименте и в исследованиях Р.К. Geyer. Согласно полученным данным, белок CP60 взаимодействует с последовательностями эндогенных инсуляторов, инсулятором из ретротранспозона *МДГ4 in vivo* и не взаимодействует с последовательностями из кодирующими белок части генов *actin* и *ras*. Также было показано, что в отсутствие белка CP190 белок CP60 не связывается с большинством Su(Hw) инсуляторов. Однако в отсутствие белка CP60 связывание белков CP190 и Su(Hw) с большинством инсуляторов не изменяется. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что белок CP60 является компонентом Su(Hw)- зависимого инсуляторного комплекса дрозофилы и именно белок CP190 обеспечивает связь CP60 с инсуляторным комплексом.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых МД-667.2012.4.

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОЙ БИОЛОГИИ ТОКСИЧНЫХ РИБОНУКЛЕАЗ

Ширшиков Ф.В.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, 420008, г. Казань,
ул. Кремлёвская, 18

E-mail: shrshkv@ya.ru

Разработка новых подходов к рациональной модификации аминокислотной последовательности рибонуклеаз (РНКаз), продуцентами которых являются некоторые бактерии рода *Bacillus*, может помочь понять механизм токсичности этих ферментов и создать более эффективные терапевтические препараты. Весьма интересные эффекты проявляет гуанилспецифичная РНКазы *B. intermedius* 7P, или биназы, обладающая избирательным токсическим действием на некоторые линии опухолевых клеток. В предыдущих исследованиях *in silico* у биназы был обнаружен гидрофобный сегмент.

Цель данной работы — разработка способа рациональной модификации аминокислотной последовательности биназы для усиления гидрофобного взаимодействия с липидным бислоем клетки-мишени или её внутриклеточных органоидов. Замещения проводились по аминокислотному остатку лейцина второй спирали, стерически доступному для взаимодействия с липидным бислоем. В работе использовались термодинамические расчёты свободной энергии переноса второй спирали из водной фазы на поверхность липидного бислоя, а также величины гидрофобного момента. Было создано три варианта аминокислотной последовательности гидрофобного сегмента биназы, обладающих повышенными гидрофобными свойствами, с замещениями лейцина на тирозин, фенилаланин и триптофан. При замещении на триптофан значение свободной энергии переноса удалось понизить в 2 раза, а значение гидрофобного момента повысить более чем в 2 раза.

Известно, что замещение первого аминокислотного остатка второй спирали биназы — лизина на аланин приводит к снижению каталитической активности фермента на 30% (Зеленихин *et al.*, 2005). Для сопряжения применяемой методики рациональной модификации биназы с экспериментальными результатами *in vitro*, был проведён расчёт и для гидрофобного сегмента биназы со сниженной каталитической активностью. Было показано, что при такой модификации свободная энергия переноса гидрофобного сегмента увеличивается на 69%, в то время как значение гидрофобного момента уменьшается на 52%. При этом, авторами делается вывод о достаточности уровня каталитической активности мутанта для индукции апоптоза. В свете результатов данного исследования при модификации биназы важно учитывать возможность повышения гидрофобности белка, поскольку апоптогенное действие биназы и её мутанта на клетки миелоидного лейкоза в обсуждаемой работе не имеет статистически достоверных различий.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДА LYS-GLU И ВХОДЯЩИХ В ЕГО СОСТАВ АМИНОКИСЛОТ НА ИММУНОГЕНЕЗ В СЕЛЕЗЕНКЕ

Червякова Н.А., Дудков А.В., Трофимова С.В.

*Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии
197110 г. Санкт-Петербург, пр. Динамо, д. 3*

E-mail: miayu@yandex.ru

Селезенка является ключевым органом периферической иммунной системы, возрастная инволюция которого приводит к развитию аутоиммунных и онкологических заболеваний. Применение коротких пептидов восстанавливает функции иммунной системы при старении. Целью исследования явилось сравнительное изучение действия пептида Lys-Glu и входящих в его состав аминокислот на экспрессию маркера В-лимфоцитов и макрофагов в селезенке.

Исследование проводили на органотипических культурах клеток селезенки старых крыс линии Wistar (24 мес.), разделённых на 4 группы: контрольную – с добавлением физиологического раствора, и 2 экспериментальные – с введением аминокислот Lys, Glu и дипептида в концентрации 0,05 нг/мл. Через 3 сут культуры фиксировали 95% этанолом для проведения иммуноцитохимической реакции, используя моноклональные антитела к маркерам В-лимфоцитов (CD20) и покоящихся макрофагов (CD68), затем фотографировали образцы и с помощью программы Videotest-Morphology 5,2 анализировали полученные изображения по показателю площади экспрессии в %.

В контрольной группе площадь экспрессии CD20 составила $0,15 \pm 0,02\%$, CD68 – $0,06 \pm 0,005\%$. Под действием аминокислот (Lys и Glu) площадь экспрессии маркеров достоверно не изменялась. Дипептид способствовал достоверному увеличению площади экспрессии CD20 до $0,28 \pm 0,02\%$ и CD68 – до $0,10 \pm 0,01\%$ ($p < 0,05$).

Таким образом, дипептид усиливает экспрессию маркеров В-лимфоцитов и макрофагов в культуре клеток селезенки старых крыс и может рассматриваться как иммуномодулирующее средство. Отсутствие влияния на клетки селезенки аминокислот, входящих в состав дипептида, может свидетельствовать о реализации биологической активности дипептида при участии пептидной связи.

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ И ВЛИЯНИЕ
НАНОДИСПЕРСНЫХ СОСТАВОВ СЕРЫ И ЖЕЛЕЗА НА
СОДЕРЖАНИЕ БЕЛКА И КЛЕЙКОВИНЫ ПШЕНИЦЫ**

Ямалеев А.М.¹, Массалимов И.А.², Ямалеева А.А.², Мустафин А.Г.²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Башкирский институт сельского хозяйства РАСХН, 450059, г. Уфа, ул. Р. Зорге, 19

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение Башкирский государственный университет, 450076, г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32

E-mail: yamaleev2@mail.ru

Применение нанопрепаратов в качестве микроудобрений позволяет повысить устойчивость растений к болезням, неблагоприятным погодным условиям и увеличить содержание белка и урожайность зерновых культур. Целесообразным приемом является использование в процессе предпосевной подготовки семян микроэлементных нанодисперсных составов из серы и железа. Нами была выявлена биологическая активность различных добавок гликолей и спиртов к дисперсии наночастиц серы и железа. Установлено, что наночастицы в диапазоне меньшем, чем 100 нм, обладают высокой биологической эффективностью к фитопатогенам (60%), вызывающим корневые гнили, листовые болезни пшеницы и могут быть использованы как средство защиты растений.

Показано модулирующее действие нанодисперсных составов серы и железа на лазерно-оптические свойства хлорофилл-белковых комплексов и функциональную активность лектинов пшеницы в условиях фитопатогенеза. Структурные изменения в молекулах лектинов приводят к активации их функциональных свойств, что позволяет отнести этот класс белков к компонентам клетки, участвующим в нейтрализации токсического действия возбудителей болезней и ксенобиотиков. Нанопрепараты серы и железа снижают угнетающее седативное действие химических реагентов при комплексных обработках растений, улучшают качество зерна – нанопродукта, т.е. продукта, если при его выращивании, производстве использовались наночастицы, нанотехнологические разработки. Разработанная агробионанотехнология оказывает физиологическое действие на растительный организм на всех его этапах роста и развития.

Принципиально новым в этой нанотехнологии является комплексный подход к процессу получения качественной высокобелковой зерновой продукции. За счет снижения интенсивности развития болезней увеличение содержания клейковины и белка в зерне яровой пшеницы в вариантах с использованием наноагротехнологии составляет 3,6% и 2,1% соответственно. Показана возможность создания новых полифункциональных нанопрепаратов на основе метаболитных комплексов микроорганизмов – продуцентов БАВ в сочетании с полимерным нанодисперсным субстратом серы и железа.

ГЕМАГГЛЮТИНИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ УГЛЕВОДСВЯЗЫВАЮЩИХ БЕЛКОВ ХЛОРОФИЛЛ-БЕЛКОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ХВОИ СЕЯНЦЕВ КЛИМАТИПОВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Ямалеев О.А.

Филиал федерального государственного учреждения «Российский центр защиты леса» «Центр защиты леса Ленинградской области», 194021, г. Санкт-Петербург, Институтский проспект, д. 21

E-mail: lesoleg@mail.ru

Совершенствование действующего лесосеменного районирования и отбор лучших инорайонных климатипов сосны для интродукции проводятся с использованием различных показателей, в частности, на основе многих признаков семян и хвои. Целью исследования являлось изучение содержания и гемагглютинирующей активности (ГА) белков-лектинов в хвое климатипов сосны различного географического происхождения. Применение лектинов хвои в ботанико-географических лесоводственных исследованиях, благодаря уникальным свойствам фитогемагглютининов, является перспективным методологическим подходом. Нами исследованы фитолектины и функциональное состояние хлорофилл-белковых комплексов (ХБК) хвои семян различных климатипов *Pinus sylvestris* L., произрастающих в климатических условиях Башкортостана.

В хвое семян определяли количественное содержание белков-лектинов и ГА лектинов ХБК по Луцику (1984); лазерно-оптические показатели получены на лазерном спектрофотометре Лафот (Лискер, 1995). Были установлены существенные различия между климатипами по абсорбции лазерного излучения ХБК, а также по степени диффузного и зеркального отражения света, что свидетельствует об изменении внутренней структуры хвои. Уменьшение отношения хлорофилла а к хлорофиллу b в хвое географически удаленных климатипов свидетельствует об адаптивных перестройках фотосинтезирующего аппарата сосны, что является адаптивной реакцией семян. Оценка ГА лектинов хвои показала, что семенное потомство даже самых отдаленных в географическом плане происхождений имеет показатели не хуже, чем у местного южноуральского климатипа. Далее идут семена, происходящие из Псковской, Пермской, Московской, Тверской, Тамбовской, Вологодской областей и из южной части Республики Карелия. Таким образом, на ранней стадии развития географических культур сосны оценка ГА лектинов и Ab,% света демонстрирует закономерные связи с фактором их географического происхождения, предопределяя успешность развития климатипов в первые годы после посадки. Однако следует отметить, что в материнских культурах первого поколения в 7-10 летнем возрасте, когда уже остался позади послепосадочный стресс и начался этап конкурентных отношений между особями, прослеживается смена рангового положения среди климатипов.

АНАЛОГ ФРАГМЕНТА АКТГ 4-10 СЕМАКС ОСЛАБЛЯЕТ ЭФФЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА У КРЫС

Яценко К.А., Иноземцева Л.С., Марков Д.Д., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф., Гривенников И.А., Долотов О.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной генетики РАН, 123182, г. Москва, пл. Курчатова, 2

E-mail: mikeschiz@yandex.ru

Стабилизированный аналог фрагмента 4-10 адренокортикотропного гормона (АКТГ) Семакс (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro) клинически применяется в качестве ноотропного и нейропротекторного средства и используется для лечения когнитивных нарушений различного происхождения и последствий инсульта, травм головного мозга и ряда других заболеваний ЦНС различного происхождения. Ранее нами было показано, что Семакс способен увеличивать экспрессию нейротрофического фактора мозга (BDNF) на уровне мРНК и белка в различных структурах головного мозга крысы, включая гиппокамп. В то же время, имеются данные о том, что ряд патологических состояний ЦНС, в том числе и депрессивноподобные состояния, связаны с уменьшением уровня BDNF в гиппокампе. При этом в экспериментальных моделях показано, что введение в мозг BDNF оказывает антидепрессантное действие. Задачей работы являлось изучение способности пептида Семакс влиять на проявление физиологических и поведенческих эффектов непредсказуемого хронического стресса (НХС) у крыс — модели, широко используемой для исследования депрессивноподобных состояний. Было обнаружено, что хроническое внутривнутрибрюшинное введение Семакса в дозе 50 мкг/кг веса предотвращало вызванное НХС снижение набора массы тела крыс, гипертрофию надпочечников и развитие ангедонии (тест на предпочтение сахарозы). Введение Семакса предотвращало вызванное НХС снижение уровня BDNF в гиппокампе крысы. Более того, хроническое введение Семакса при выраженных эффектах НХС (начало введения после двух недель НХС) приводило к нормализации набора массы тела и поведения на фоне НХС. Полученные данные свидетельствуют о способности Семакса ослаблять физиологические и поведенческие эффекты хронического стресса и его возможной эффективности в лечении патологий, связанных с хроническим стрессом.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант №13-04-01690 А.

АВТОРСКИЙ ИНДЕКС

- Yusupov M. 38
 Авраменко Г.В. 275
 Азаркин И.В. 51,181,209
 Азев В.И. 63,113
 Азьмуко А.А. 79,126,229
 Акпаров В.Х. 256
 Алексеев Д.Г. 55,57,58,209
 Алифанов В.Л. 192
 Алифинова В.М. 197

 Аллагулова Ч.Р. 142
 Аллилугев А.П. 98
 Алтухов И.А. 58
 Альховик О.И. 265
 Андреев Я.А. 53,212
 Андреева Л.А. 143,146,154,172,173,176,289
 Андреева Т.В. 54
 Андреева Ю.Ю. 99
 Андрианова А.Г. 168
 Анохина В.В. 148
 Антипова Т.А. 159
 Антоненко Ю.Н. 145
 Апарин И.О. 126
 Арапиди Г.П. 51,181,209

 Ардемасова З.А. 242
 Арефьева Т.И. 79
 Арзамасов А.А. 224
 Арсеньев А.С. 40,246
 Артемова Н.В. 237
 Артемьев М.В. 62
 Астахова Т. М. 86,87
 Ахатова А.Р. 122
 Ахидова Е.В. 194
 Ахметова А.И. 257
 Ахметшина М.Р. 79,201
 Ашапкин В.В. 110
 Баймиев Ал.Х. 144,161
 Баймиев Ан.Х. 144,161
 Балабан Н.П. 258
 Балаев В.В. 72
 Балобанов В.А. 70
 Башарина В.С. 112
 Безнос О.В. 175
 Белозерский М.А. 273,276
 Белякова А.С. 76
 Белякова Г.А. 273,276
 Бенберин В.В. 253
 Беневоленская А.Д. 109
 Бердалин А.Б. 79,109,201
 Беркут А.А. 246
 Беспалова Ж.Д. 79,126,128,136,229
 Бибилашвили Р.Ш. 136

 Биневский П.В. 175,241
 Бобик Т.В. 165
 Богачук А.П. 113
 Богомольная Л.М. 271
 Божок Г.А. 239
 Бозиев Х.М. 83
 Бозин Т.Н. 136
 Болдырева Е.Ф. 125,140
 Бондаренко Т.И. 219
 Бондаренко Т.П. 239
 Борзова В.А. 225
 Бочаров Э.В. 40
 Бочарова О.В. 40,59,136
 Бошкова Е.А. 218
 Браже А.Р. 260
 Браже Н.А. 260
 Бражников Е.В. 132,218,220
 Бритиков В.В. 259
 Бровко Ф.А. 83
 Брылёв М.И. 192
 Брянцева Т.В. 260
 Бунева В.Н. 197
 Бунеева О.А. 119,130
 Буник В.И. 147
 Буравков С.В. 79,109
 Буров С.В. 153
 Бурханова Г.Ф. 122
 Буряк А.К. 230
 Бурячковская Л.И. 128
 Бушуев В.Н. 229
 Бычкова В.Е. 70
 Валеева Л.Р. 258
 Валиахметова К.И. 211
 Валиуллина Ю.А. 226
 Валуева Т.А. 164,167
 Ванюшин Б.Ф. 44,110
 Ванюшкина А.А. 57
 Варламов В.П. 199,243
 Василевская А.В. 249,261
 Василевский А.А. 50,52,121,210,
 224,238,246
 Васильев В.Д. 70
 Васильева С.Г. 228
 Васина Л.В. 153
 Вафина Г.Х. 84,198
 Вахитов В.А. 82
 Вахитова Ю.В. 82,178
 Вершинина З.Р. 144
 Веселова С.В. 102

 Виноградов А.В. 202
 Винокуров М.Г. 214
 Власова К.Ю. 270

- Волкова Т.Д. 194
Володина М.А. 157
Вольнский П.Е. 65
Вольпина О.М. 194
Воротникова Е.А. 101,245,248
Воскресенская О.Г. 76
Вульфийус Е.А. 54,81
Высоких М.Ю. 145
Вьюнова Т.В. 107, 172, 173, 176
Габдулхаков А.Г. 222
Гаврилова С.А. 79,109,143,201
Гапизов С.Ш. 125
Гараев Т.М. 204
Гарбер М.Б. 222
Гарбуз О.С.185
Гарипов О.С. 120
Гарипова М.И. 120
Гвоздева Е.Л. 164
Герасимова Н.В. 167
Гилеп А.А. 249,261
Гиляева А.Г. 271
Глазова Н.Ю. 108,146
Говорун В.М. 37,51,55,57,58,181,209
Головнин А.К. 284
Голубева А.В. 109
Голубович В.П. 76,227,234
Гончарова Е.А. 93
Гончарук С.А. 40
Гоптарь И.А. 101,170
Горбачёв А.Ю. 57
Горбунова Е.Ю. 63
Гордеев А.Б.219
Гордеева Е.А. 124
Горделий В.И. 42
Горленко В.А. 97
Горшкова Т.А. 56
Горшкова Т.Н. 57
Горюнов А.С. 69
Грайнер Р. 278
Граф А.В. 147
Гривенников И.А. 115,143,289
Гришин Е.В. 36,50,52,53,121,210,
212,224,238,246
Гришкова М.В. 97
Гудашева Т.А. 77,133,149,159,178
Гурьянов С.Г. 83
Гусев О.А. 283
Дадаян А.К. 59
Данилов С.М. 231
Данилова Ю.В. 262,278
Деева О.А. 133
Дейгин В.И. 61,233,251
Дерябин П.Г. 204
Джулиано Л. 248
Диаз Ж.-Ж. 190
Димитриева Т.В. 251
Диченко Я.В. 263
Дмитроченко А.Е. 264
Долгих Д.А. 70,125,140,260,272
Долотов О.В. 108,115,143,289
Домаш В.И. 164
Дормешкин Д.О. 261
Дорош М.Ю. 153
Дрожжина Е.Ю. 98
Дубинный М.А. 40
Дубынин В.А. 75,143,240,242
Дударёнок А.П. 76
Дудков А.В. 112,286
Дунаевский Я.Е. 273,276
Дымова М.А. 265
Евгеньев М.Б. 202
Евсютина Д.В. 170
Егоров Ц.А. 49,50,246
Егорова А.Г. 70
Елисеева И.А. 70,83
Емельянова А.Г. 201
Ермаков Е.А. 197
Ермакова Е.А. 138,221,226
Ермола Е.М. 227,234
Еронина Т.Б. 94,163
Ерохов П.А. 86
Ершова О.М. 183
Есипов Р.С. 104,215,216,266,268
Ефимов А.В. 39,132,218,219,220
Ефременко А.В. 66
Ефремов Е.Е. 126,136
Ефремов Е.С. 61
Ефремов Р.Г. 65,71
Жаворонков Л.П. 233,251
Жмак М.Н. 54,80
Журавлев А.В. 74
Завалишина Л.Э. 99,194
Заикина Е.А. 122
Зайнуллина Л.Ф. 82
Замалютдинова Н.М. 271
Замятнин А.А. 85
Захаров А.М. 154
Захаров Г.А. 74
Захаров И.С. 283
Захарченко Н.Л. 226
Зацепина О.В. 190
Зверева И.О. 266
Згода В.Г. 119
Зелепуга Е.А. 280
Зиганшин Р.Х. 51,59,124,181,209
Зиновьева С.В. 167
Зинченко А.А. 98,124
Золотарев Ю.А. 59,113
Зуев Ю.Ф. 137,138,226
Ибрагимов Р.И. 211

- Ибрагимова Н.Н. 56
Иванов В.Т. 51,55,83,155,181,209
Иванов О.А. 164
Иванов Р.С. 84,198
Иванова В.П. 148
Иванова Е.А. 119
Иванова О.М. 51,181
Иванова С.А. 197
Иванова Э.А. 84,198
Игнатова А.А. 224
Иевлева Е.В. 164,167
Изместьева О.С. 61,233,251
Израельсон М.А. 57
Ильина А.В. 199,243
Ильина Н.Б. 70
Иноземцева Л.С. 115,154,289
Исаева А.В. 228
Исаева М.П. 280
Кабанов А.В. 270
Казакова Л.И. 214
Казакова О.А. 228
Казанский Д.Б. 105,177
Каледин В.И. 11
Калиберда Е.Н. 165
Калинина А.А. 105,177
Калинина Н.О. 191
Калинцева М.В. 194
Калихевич В.Н. 242
Калошин А.А. 130
Камашев Д.Э. 57
Каменский А.А. 76,146,157,242
Каменский П.А. 145
Канцерова Н.П. 45,267
Капица И.Г. 119
Каплун А.П. 194
Кара Д.А. 225
Каралкин П.А. 169
Каргатов А.М. 220
Карпова И.Ю. 57
Карпова Л.М. 198
Карпова Я.Д. 86,239
Касимова Р.И. 122
Катина Н.С. 70
Кашеверов И.Е. 54,80,81
Кечин А.А. 265
Кикавада Т. 283
Кирбаева Н.В. 183
Кирпичников М.П. 66,121,125,140,210,260
Кленова Н.А. 228,230
Ключникова Е.О. 142
Клячко Н.Л. 175,270
Ковалев Г.И. 113
Ковалева З.В. 148
Коваленко И.Б. 67
Коваль В.Д. 100
Коваль О.А. 111
Ковальчук С.И. 51,55,57,58,181,209,224,238
Козик В.С. 59
Козина Е.А. 152
Козлов С.А. 52,53,160
Козловская Э.П. 280
Колесникова О.А. 145
Колик Л.Г. 133
Коломиец Л.А. 100
Коломийцева Г.Я. 158
Колясникова К.Н. 149
Кондакова И.В. 100
Коннова Т.А. 137
Копертек Л. 235
Копылов А.Т. 119
Копылова Г.В. 237
Кордюкова М.Ю. 190
Коробов В.П. 89,150,151
Короев Д.О. 194
Королькова Ю.В. 121,210,212
Коромыслова А.Д. 71
Коршун В.А. 127
Кост Н.В. 107
Кост О.А. 175,231,241
Костецкий П.В. 134
Костина Д.А. 230
Костромина М.А. 268
Кострюкова Е.С. 55,57
Костюкова Ю.А. 195
Костюченко М.В. 284
Котельникова О.В. 98
Кочеткова О.Ю. 214
Кошелев В.Б. 109,143
Красильщикова М.С. 124
Красникова Т.Л. 79
Кривченко А.И. 148
Крушинская Я.В. 147
Крылов В.В. 267
Крюкова Е.А. 125,140,272
Крюкова Е.В. 54,152,252
Крюкова О.В. 231
Ксенофонтова О.Б. 61
Кугаевская Е.В. 99
Куджаев А.М. 168
Кудояров Э.Р. 82
Кудрин В.С. 102
Кудрявцев Д.С. 80,193
Кудряшова К.С. 66,121,210
Кузнецов А.С. 65
Кузнецов С.А. 256
Кузнецова Н.Б. 192
Кузьменков А.И. 121,210
Кулаковская Е.А. 147

- Кулигина Е.В. 111
Куликов С.Н. 243
Кулуев Б.Р. 232
Кураева Ю.Г. 228
Куранова И.П. 256
Курганов Б.И. 94,163,225
Курейкин Б.Б. 216
Курильщикова А.М. 265
Кутилин Д.С. 269
Ламан А.Г. 83
Лашков А.А. 72
Лебедева Е.А. 228
Левицкая Н.Г. 108,143,146,154,157
Левицкий Д.И. 90,237
Легач Е.И. 239
Легоцкий С.А. 270
Леднев Е.М. 201
Лейченко Е.В. 280
Леко М.В. 153
Леконцева Н.В. 70
Лемкина Л.М. 89,150,151
Лесовой Д.М. 40
Лизунов А.Ю. 192
Линькова Н.С. 110,112,282
Липкин В.М. 113
Литвинов И.С. 125
Литвинова Е.Г. 230
Лобанов А.В. 155
Лобанова А.О. 170
Логвинов И.О. 159
Лоторев Д.С. 192
Лузянина А.А. 61,233,251
Лукашев Е.П. 125
Лукошкова Е.В. 201
Лукьянов К.А. 190
Луховицкая Н.И. 92
Лушников С.Г. 74
Лысенко Л.А. 45,267
Люкманова Е.Н. 80
Люпина Ю. В. 86,87,239
Лябин Д.Н. 83
Мажейка И.С. 55
Мазин П.В. 57
Макаревич Д.А. 234
Макаров В.В. 191
Макаров Д.А. 215
Макарова С.С. 235
Макеева В.Ф. 225
Максимов Г.В. 260
Максимов И.В. 102
Макшакова О.Н. 188,221
Малеева Е.Е. 160
Мальшев А.В. 75,242
Мамочкина Е.Н. 126
Манолов А.И. 55
Манченко Д.М. 108,154
Марданова А.М. 271,274
Марков Д.Д. 115,289
Марков Д.И. 90
Маркосян К.А. 225
Мартинович В.П. 227,234
Мартьянов А.Г. 101,170,236
Масленникова Д.Р. 142
Маслова М.В. 147
Массалимов И.А. 287
Матюшенко А.М. 237
Мачулин А.В. 70
Медведев А.Е. 119,130
Медведев В.Э. 107
Медведева А.В. 74,114
Межевикина Л.М. 130
Мелихова Т.Д. 98,124
Мельникова Л.С. 284
Мерцалов Г.В. 193
Мерчиева С.А. 146
Мехтиев А.Р. 169
Мешавкин В.К. 107
Мещерякова О.В. 166
Миков А.Н. 160
Минеев К.С. 40,246
Мирошников К.А. 270
Митрошин И.В. 222
Михайлов А.М. 72
Михайлова А.Г. 97
Михалева И.И. 155,269
Михалёва М.А. 127
Мишин Д.В. 204
Мокшина Н.Е. 56
Молокоедов А.С. 126,128,136,229
Монастырская М.М. 280
Моралева А.А. 190
Морозов И.А. 151
Морозов С.Ю. 235
Морозов Ю.А. 105,177
Морозова М.П. 201
Мочалов К.Е. 62
Мошарова И.В. 212
Мошков Д.А. 214
Мукосей И.С. 191
Муранов К.О. 225
Мурашев А.Н. 113,155,202
Мурзагулов Г.С. 156
Мурзина С.А. 166
Мурина В.Н. 68
Мустаева Л.Г. 63
Мустафин А.Г. 287
Мухачева Е.С. 192
Мясоедов Н.Ф. 43,59,91,106,107,108,
143,146,154,172,173,
176,289

- Набиев И.Р. 62
Наволоцкая Е.В. 78
Надеждин К.Д. 40
Назимов И.В. 59,129
Назмиев Б.К. 156
Невинский Г.А. 197
Некрасов А.Н. 260
Некрасова О.В. 121
Некрасова Ю.Н. 78,205
Некрасова О.В. 210
Немова Н.Н. 45,166,267
Неробкова Л.Н. 119
Нестерова А.В. 107
Никитин В.Б. 93
Никитина Е.А. 74,114
Николаева О.П. 90
Николенко А.Г. 156
Никольская И.И. 175
Никонов С.В. 222
Никонова Ю.А. 104
Никоноров Ю.М. 232
Никонорова Н.А. 182
Никулин А.Д. 68
Новотоцкая-Власова К.А. 272
Нокель Е.А. 98,124
Нольде Д.Е. 65
Нужная Т.В. 102
Нургалева Э.З. 232
Овчинников Л.П. 83
Овчинникова М.В. 97
Одинцова Т.И. 49
Олейников В.А. 62
Оноприенко Л.В. 155
Опарин П.Б. 246
Опперт Б. 236
Орлова А. Ш. 87
Орлова Е.В. 277
Осипов А.В. 54
Осмаков Д.И. 53
Остров В.Ф. 202
Островская Р.У. 178
Павленко Т.А. 175
Павлова Л.А. 192
Падалко Н.С. 90
Палькеева М.Е. 126
Панкратов А.Н. 139
Панова И.Г. 135
Парамонов А.С. 40
Парфенова Е.В. 46
Паялина Т.Л. 74
Пелевин Н.А. 192
Пеньёр С. 246
Перцов С.С. 183
Пестов Н.А. 66
Петренко Т.И. 265
Петрищев Н.Н. 153
Петровская Л.Е. 125,140,272
Плетнев В. З. 41
Плеханова О.С. 46
Плужников К.А. 52
Побегуц О.В. 57,58
Погоржельская Н.С. 277
Ползиков М.А. 190
Полудова Т.В. 89,150,157
Полянский А.А. 65
Полянский Н.Б. 225
Попов А.В. 174
Попова В.В. 273
Поскряков А.В. 156
Потапенко М.О. 111
Похвощева А.В. 153
Прийма А.Д. 270
Прокофьев И.И. 72
Проняева В.Е. 253,282
Прохоренко И.А. 127
Прудченко И.А. 155
Пурыгин П.П. 230
Разумкина Е.В. 75
Раменская Г.В. 192
Рачков К.В. 277
Ревина Т.А. 167
Резайкин А.В. 203
Рендаков Н.Л. 45
Репкина Н.С. 247
Ржевский Д.И. 113
Ривкина Е.М. 272
Ризванов И.Х. 182
Ризниченко Г.Ю. 67
Римарева Л.В. 277
Рихтер В.А. 111
Рогозинская Э.Я. 75
Родионов И.Л. 63,83
Рожков С.П. 69
Рокицкая Т.И. 145
Роман С.Г. 64,163
Романова Ю.Д. 274
Ротанова Т.В. 96,168
Рубин А.Б. 67
Рудакова Н.Л. 258
Руденская Г.Н. 88
Рулева Н.Ю. 79
Румш Л.Д. 97,98,165
Румянцева Н.И. 182,195
Рыжакова О.С. 99
Рыжакова-Тимошенко О.С. 169
Рязанцев Д.Ю. 252
Сабурова Е.А. 171
Савватеева-Попова Е.В. 74,114
Савенков Е.И. 92
Савинов Г.В. 83

- Саенко А.С. 61
Салимгареева М.Х. 178
Салтыкова Е.С. 156
Сарычева Н.Ю. 143,242
Сачкова М.Ю. 224,238
Свиридов О.В. 185,187
Свирищевская Е.В. 83,272
Себенцова Е.А. 108,157
Седякина Н.Е. 275
Селезнева И.И. 104
Семашко Т.А. 57,101,248
Семенов Д.В. 111
Семенова Т.А. 276
Серба Е.М. 277
Сергеев А.Г. 203
Сергеев Г.В. 261
Сергеева А.А. 201
Середенин С.Б. 77,133,149,178
Середина А.В. 55
Серова О.В. 98,168
Серченя Т.С. 187
Сидорова М.В. 79,126,128,136,229
Синицын А.П. 199
Ситникова Е.А. 98
Скляр Л.Ю. 129
Скрипников А.Ю. 93
Случанко Н.Н. 237
Смирнова Е.В. 113
Смирнова Л.П. 197
Смирнова Т.А. 158
Смирнова Ю.А. 101,170,245
Соколов О.Ю. 107
Соколова Н.А. 147
Соллертинская Т.Н. 106
Соловьев А.Г. 92,235
Соловьева А.Д. 92
Соловьева Н.И. 99,169
Сорочинская Е.И. 148
Сотниченко С.Е. 72
Старков В.Г. 81
Степаненко В.Н. 104,216,266
Степанова А.А. 86,239
Сторожева З.И. 113
Студитский В.М. 66
Сулейманова А.Д. 278
Сурина Е.А. 113
Суханова А.В. 62
Суханова Ю.А. 157
Таланова В. В. 247
Танасева К.К. 240
Тарасов И. 145
Тарасюк А.В. 159
Тарновская С.И. 110,279
Татиколов А.С. 135
Теремецкая И.Ю. 74
Терещенко О.Н. 107
Тимофеев В.И. 256
Титгат Я. 246
Титов А. Ф. 247
Тихомирова В.Е. 175,241
Тихоненко С.А. 171
Тихонов Д.Б. 160
Ткачева Е.С. 280
Ткачук В.А. 46
Ткачук Т.Г. 234
Тойменцева А.А. 281
Токмачева Е.В. 74,114
Топчиева Л.В. 247
Тропынина Т.С. 84
Трофимова С.В. 253,279,286
Угрюмов М.В. 152
Удалова Ж.В. 167
Умаров И.А. 211
Умнов Р.С. 282
Усанов С.А. 249,259,263,264
Усачев С.А. 254
Усманова Р.Р. 246
Устинов А.В. 127
Устиченко В.Д. 239
Уткин Ю.Н. 54,81,121
Ушакова Н.В. 267
Файзуллин Д.А. 137,182
Факиева С.А. 120
Фаткуллина У.Ш. 82
Федорова И.М. 160
Федоткина О.С. 230
Федченко В.И. 130
Феофанов А.В. 66,121,210,224
Фесенко И.А. 55
Филатова Л.Б. 151
Филипенко М.Л. 265
Филиппов Д.О. 94
Филиппова И.Ю. 101,170,245,248
Финогенова М.П. 204
Фисунов Г.Ю. 57
Фомин А.С. 111
Фрид Д.А. 128
Хавинсон В.Х. 44,74,110
Хаертдинова Л.Р. 182,195
Хазигалеева Р.А. 55
Хайрутдинов Б.И. 138
Халпчаев А.Ю. 229
Хасанова Л.М. 199
Хиразова Е.Э. 147
Хромых Л.М. 105,177
Цветков В.О. 211
Цетлин В.И. 54,80,81,152,193
Цивилева О.М. 139
Цымбал О.А. 139
Чеботарева Н.А. 94,163,225

- Чемерис А.В. 232
Червякова Н.А. 286
Чередниченко А.Г. 265
Черкесова Т.С. 264
Чернышова А.Л. 100
Чертков О.В. 66
Черткова Р.В. 70
Черткова Р.В. 260
Чеснокова Е.А. 242
Чеснокова Н.Б. 175
Честухина Г.Г. 359
Чижов Ф.О. 59
Чикин Л.Д. 155
Чистяков А.А. 62
Чубукова О.В. 144,161
Чугунов А.О. 71
Чулин А.Н. 63,83
Чурова М.В. 166
Шабарчина Л.И. 171,214
Шагимарданова Е.И. 283
Шайхутдинова Э.Р. 202
Шакирова Ф.М. 142
Шамрайчук И.Л. 276
Шаповалов И.С. 284
Шапранова Ю.А. 212
Шаранова Н.Э. 183
Шарикова В.Ф. 101,170,245,248
Шарипова М.Р. 257,258,262,278,281,283
Шарова Н. П. 86,87,239
Шарф Т.В. 126, 136
Шевченко В.П. 173,176
Шевченко К.В. 172,173,176
Шелухина И.В. 152,193
Шенкарев З.О. 40
Шепеляковская А.О. 83
Шерстнев В.В. 113
Шибанова Е.Д. 124
Шибнев В.А. 204
Шиман Й. 235
Шингарова Л.Н. 125,140
Ширинский В.П. 229
Ширтц Т. 145
Ширшиков Ф.В. 285
Шишова К.В. 190
Шкель Т.В. 249,261
Шорохов М.В. 106
Шпирная И.А. 211
Шрам С.И. 91
Шулепко М.А. 80
Щеголев Б.Ф. 74
Щепкин Д.В. 237
Щербинина Т.С. 243
Элпидина Е.Н. 101,170,236,245,248
Энгель С.Р. 127
Энтелис Н. 145
Эргле Т. 137
Юнусова Н.В. 100
Юсипович А.И. 260
Языкова Е.В. 227
Якупов И.Ю. 194
Ямалеев А.М. 287
Ямалеев О.А. 288
Ямалеева А.А. 287
Янцевич А.В. 259,263,264
Янченко А.В. 227
Янченко В.В. 227
Ярославцева А.К. 104,216
Яруллина Л.Г. 122
Яценко К.А. 115,157,289

VI РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ

«БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ»

Уфа, 11-15 июня 2013 г.

МАТЕРИАЛЫ СИМПОЗИУМА

Ответственный редактор С.М. Бикбулатова
Компьютерная верстка А.А. Медведев
Технический редактор Т.А.Алпатова, О.Г.Милюкова
Художественное оформление Л.Ф. Зайнуллина, С.Л.Лобов
Графическое оформление Р.Р. Гарафутдинов

Отпечатано с готовых диапозитивов
на собственной полиграфической базе ИСЭИ УНЦ РАН
450054, РБ, г. Уфа, пр. Октября, 71
Тел: (8-347) 235-55-33, факс: (8-347) 235-55-44
Заказ № 10. Подписано в печать 19.05.2013г.
Формат 70x100 1/16. Бумага типа «Снегурочка»
Гарнитура «Times». Усл. печ. л. 14,66. Уч.-изд. л. 18,63
Тираж 250 экз.