

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК



ИТОГИ ВЫПОЛНЕНИЯ НИР В 2019 ГОДУ



АНАЛИЗ ОСНОВНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ



ОТДЕЛ ПЕПТИДНО-БЕЛКОВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ (рук. академик В.Т. Иванов)

ИФ 55,5

- **Лаборатория биокатализа**
(А.Г. Габибов)

ИФ 31,3

- **Лаборатория белков гормональной регуляции**
(А.А. Белогуров)

ИФ 26,6

- **Лаборатория химии протеолитических ферментов**
(И.В. Смирнов)

ИФ 5,9

- **Лаборатория рентгеноструктурных исследований биополимеров**
(В.З. Плетнев)

ИФ 14

- **Лаборатория клеточной биологии рецепторов**
(А.Г. Петренко)

ИФ 11,3

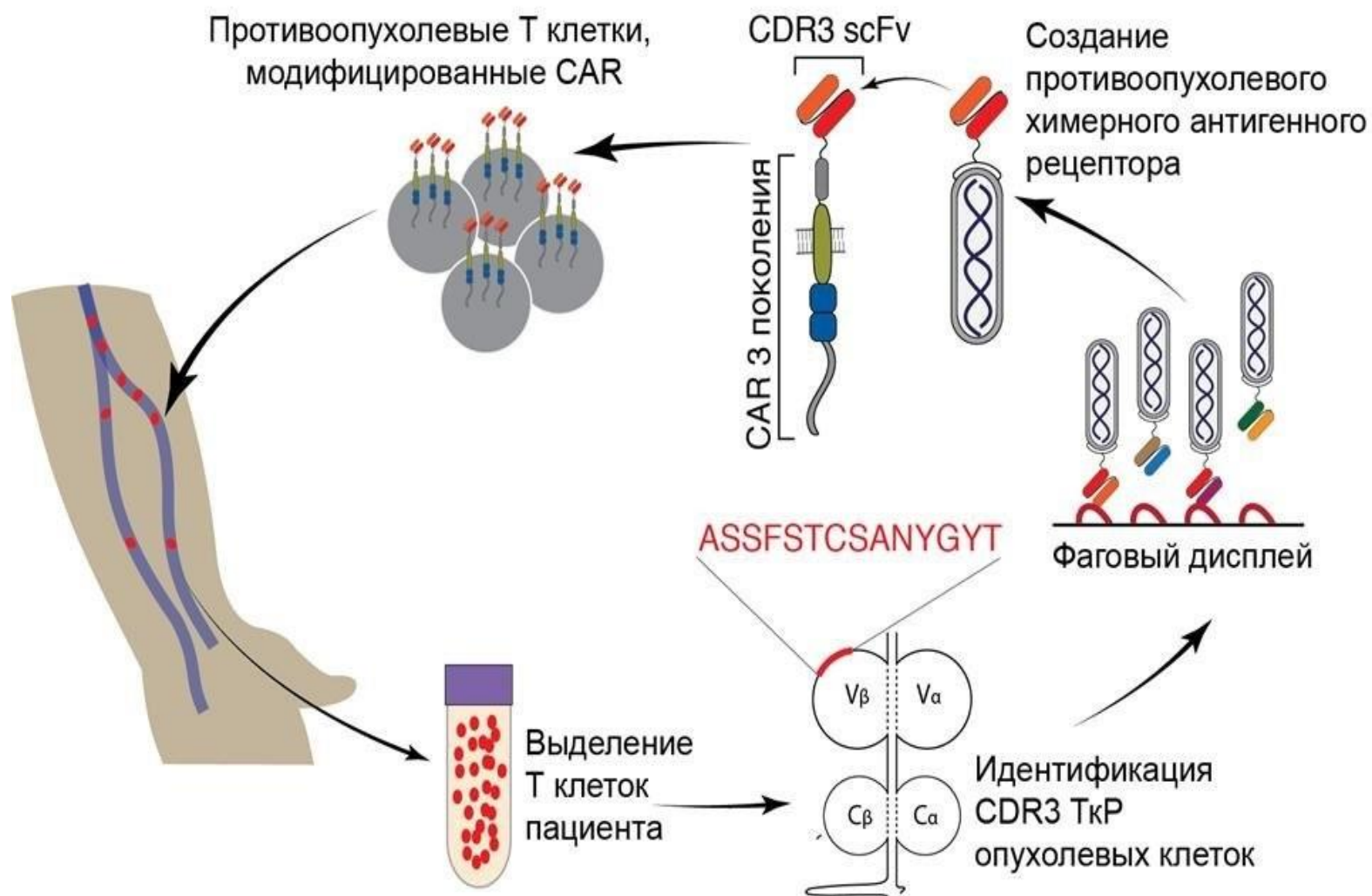
- **Группа молекулярной физиологии**
(И.Е. Деев)

ИФ 0

- **Группа экспрессии белковых факторов роста и дифференцировки**
(Е.И. Фролова)

ПЕРСНИФИЦИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ Т-КЛЕТОЧНЫХ ЛИМФОМ И ЛЕЙКОЗОВ

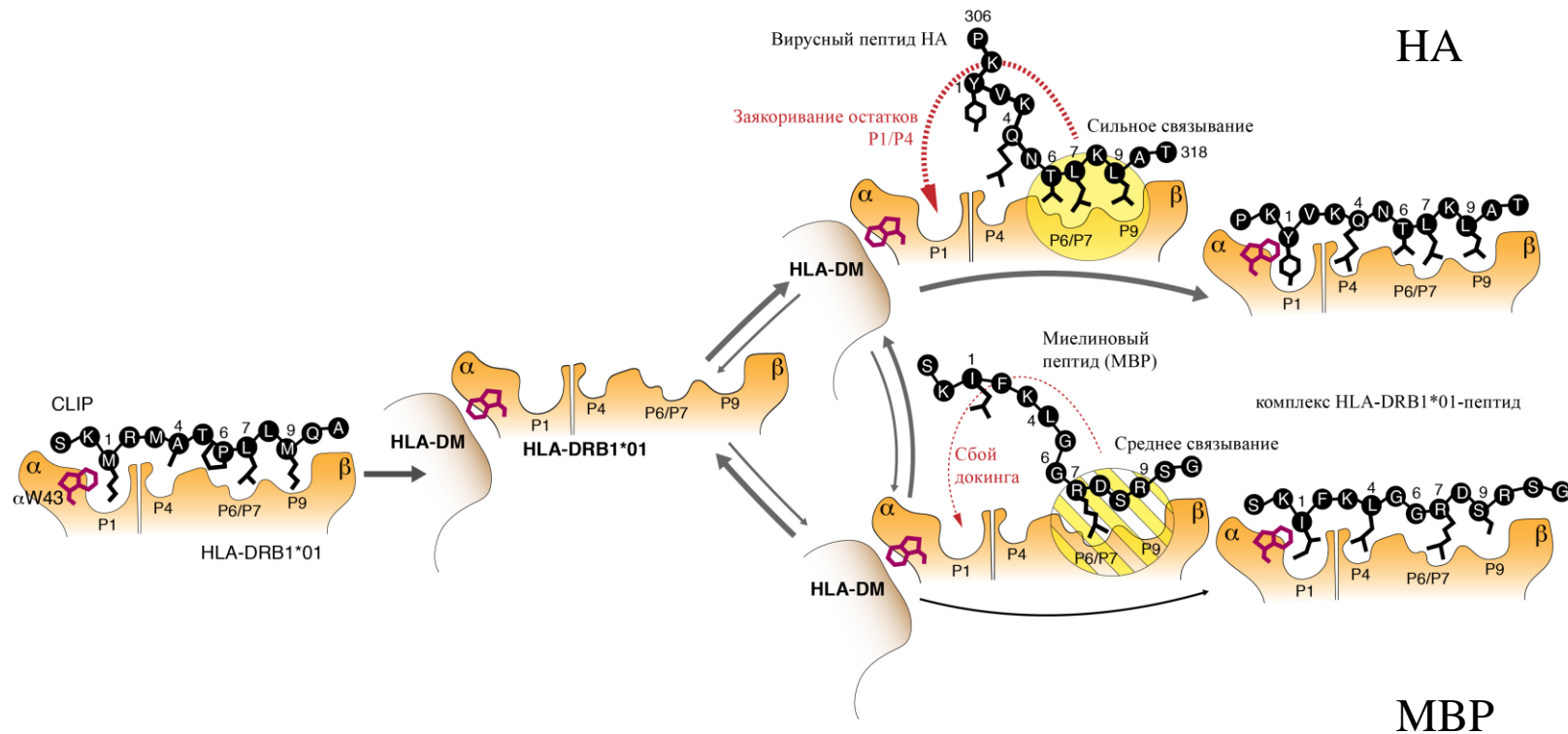
Выявление уникального лиганда лейкозных клеток позволяет уничтожать только опухолевые клетки



Для создания персонифицированной адоптивной иммунотерапии у пациентов с диагнозами лейкемия и лимфома были изолированы опухолевые Т-клетки. После определения нуклеотидных последовательностей, кодирующих гены CDR3 переменных доменов TCR, методом фагового дисплея были идентифицированы одноцепочечные антитела специфичные к CDR3 участкам TCR злокачественных Т-клеток. На основе идентифицированных опухолевых специфических scFv-CDR3 были получены химерные антигенные рецепторы. Т-клетки, модифицированные данными персонифицированными CAR, эффективно элиминировали раковые Т-клетки *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*.

Huang J и др. (2019) Unique CDR3 epitope targeting by CAR-T cells is a viable approach for treating T-cell malignancies. *Leukemia* (IF 9.944)

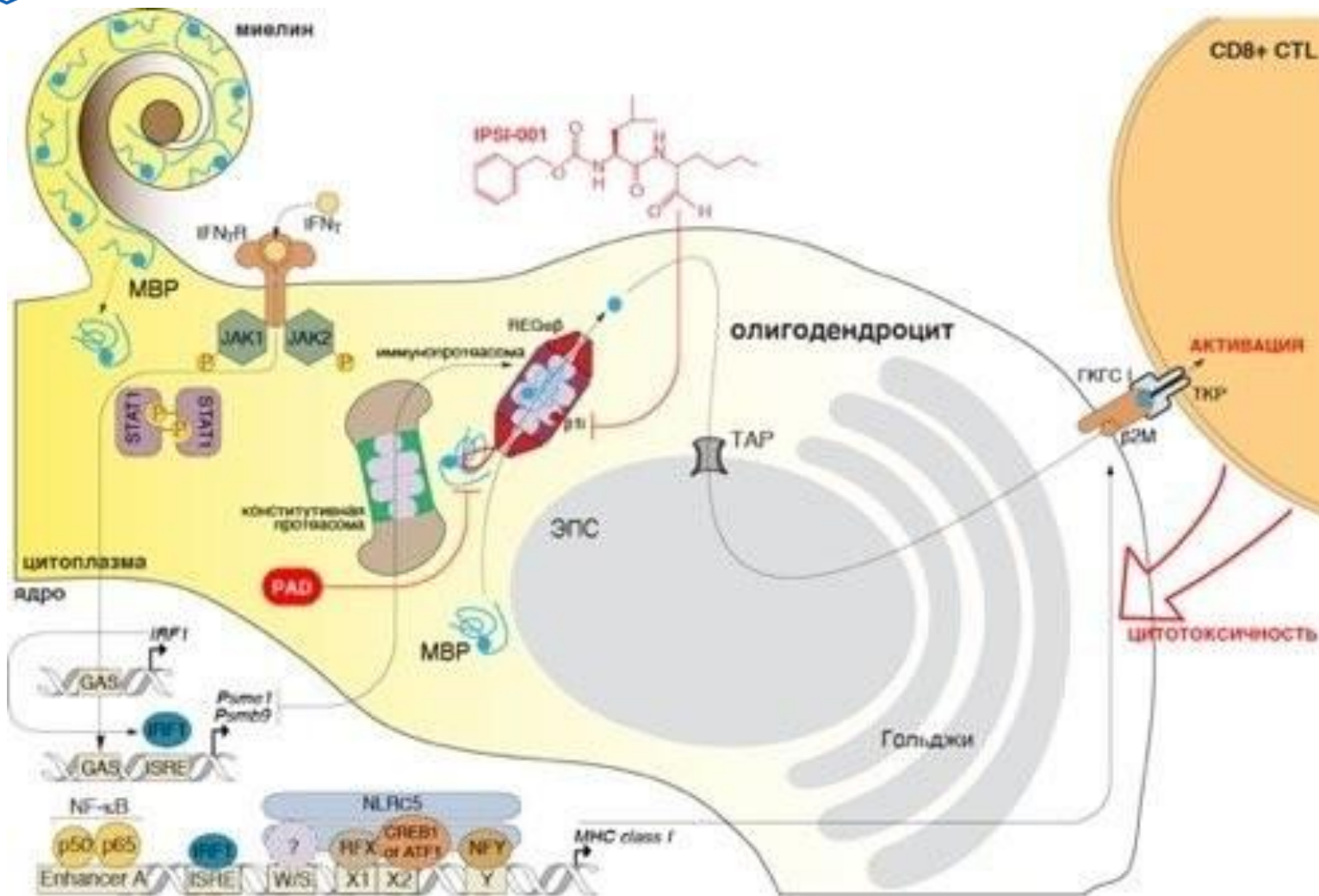
ПРОТЕКТИВНЫЙ ДЛЯ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА АЛЛЕЛЬ HLA-DRB1*01:01 РАЗЛИЧАЕТ КИНЕТИЧЕСКИ МИЕЛИНОВЫЕ И ЧУЖЕРОДНЫЕ АНТИГЕННЫЕ ПЕПТИДЫ



В результате генетического анализа тысячи больных рассеянным склерозом (РС) и здоровых доноров русской принадлежности было выявлено, что носительство групп аллелей HLA-DRB1*15 и HLA-DRB1*03 связано с риском РС, в то время как носительство групп аллелей HLA-DRB1*01 и HLA-DRB1*11 является протективным. Рекомбинантный HLA-DRB1*01:01 способен с довольно высокой аффинностью распознавать фрагменты основного белка миеллина (MBP), одного из аутоантигенов при РС, однако при сравнении кинетических параметров загрузки пептидов MBP и вирусного HA на HLA-DRB1*01:01, катализируемой HLA-DM, была показана значительно более низкая скорость обмена CLIP на пептиды MBP. Мы предполагаем, что наблюдаемые протективные свойства группы аллелей HLA-DRB1*01 могут быть непосредственно связаны со способностью HLA-DRB1*01:01 кинетически различать пептиды экзогенной и эндогенной природы.

A. Mamedov et al.(2019) Protective allele for multiple sclerosis HLA-DRB1*0101 provides kinetic discrimination of myelin and exogenous antigenic peptides. *Frontiers in Immunology. Multiple Sclerosis (ИФ 4.7)*

ОТКРЫТИЕ НОВОГО КЛАССА УБИКВИТИН-НЕЗАВИСИМЫХ ПРОТЕАСОМНЫХ ДЕГРОНОВ



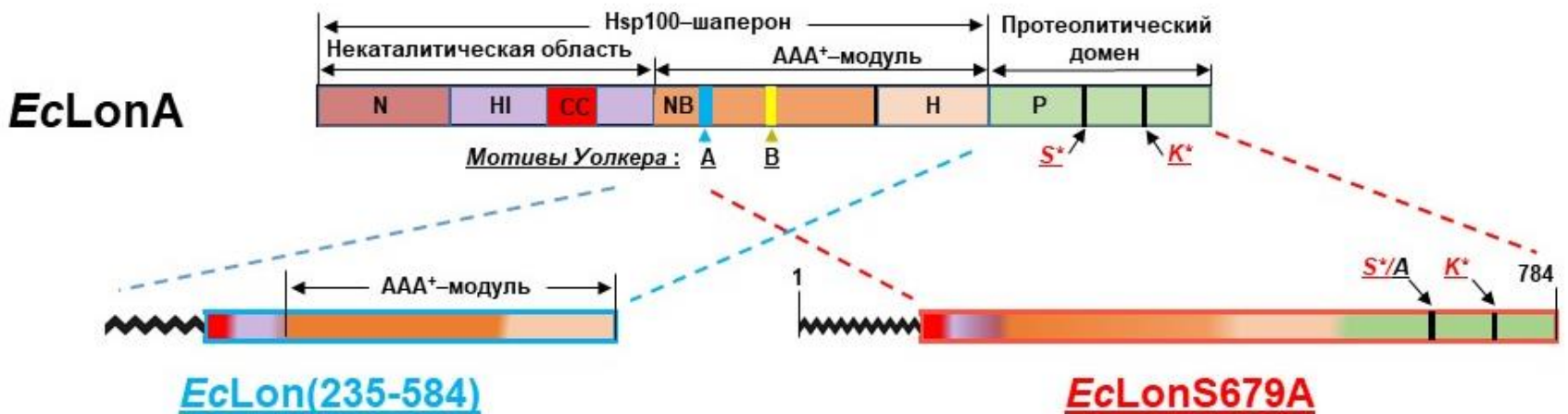
Большинство из тысяч белков в клетках млекопитающих распознаются протеасомой только будучи конъюгированными с убиквитином, представляющим собой универсальный сигнал деградации. Убиквитин-независимое расщепление белков объясняется наличием в природе двух классов протеасомных сигналов – специфической аминокислотной последовательности или посттрансляционной модификации, которые распознаются регуляторными субъединицами протеасомы. Исторически было показано, что первый из них присутствует в орнитин-декарбоксилазе, тогда как ацетилирование коровых гистонов относительно недавно было заявлено в качестве второго класса.

В настоящей работе нами был открыт третий класс убиквитин-независимых дегронов, опосредуемый зарядом. Обнаруженные дегроны можно классифицировать как моносоставные последовательности длиной примерно 70 Å, обогащенные основными аминокислотными остатками. Этот класс сигналов деградации наиболее эффективно узнается REGα или REGg кепированными протеасомами.

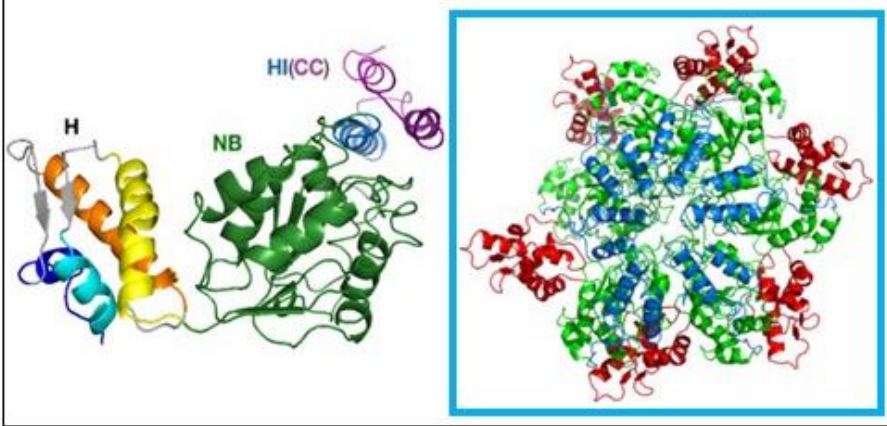
В совокупности наши результаты свидетельствуют о новой модальности взаимосвязи протеасомы и субстрата в обход системы убиквитинирования.

Kudriaeva A и др. (2019) Charge-mediated proteasome targeting. *FASEB J (IF 5.391)*

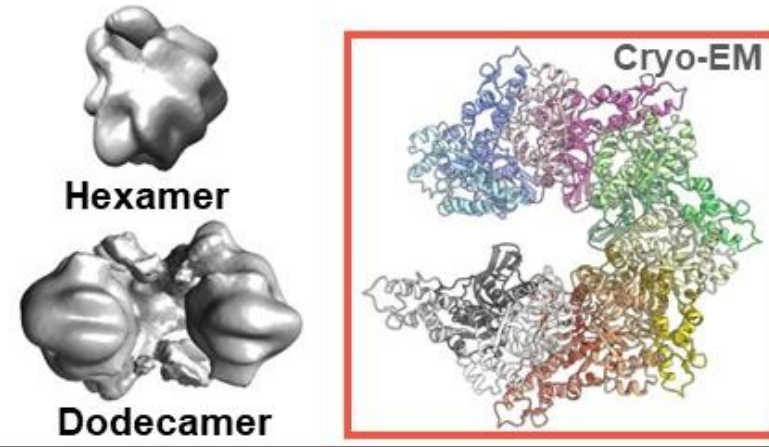
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТРУКТУРЫ АТР-ЗАВИСИМОЙ LonA-ПРОТЕАЗЫ E. COLI – КЛЮЧЕВОГО ФЕРМЕНТА СИСТЕМЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА КЛЕТОЧНЫХ БЕЛКОВ



X-ray Diffraction (PDB ID: 6N2I)



Electron Microscopy (PDB ID: 6U5Z)

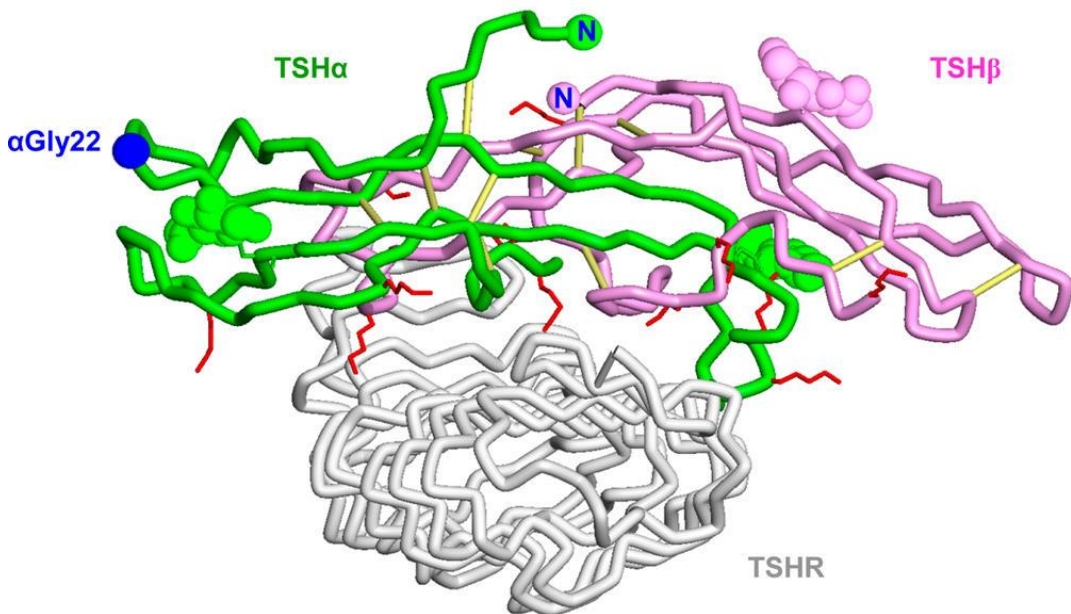
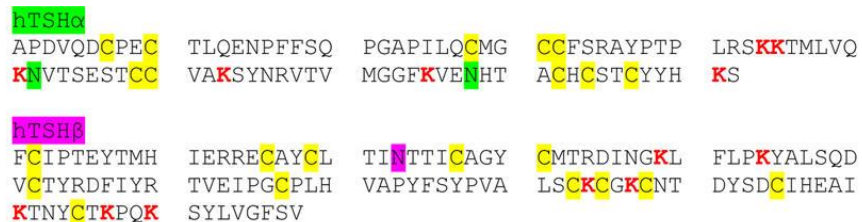


EcLonA-протеаза и ее фрагмент (235-584) формируют открытые спиральные гексамерные кольца

Rotanova T.V., Andrianova A.G., Kudzhaev A.M., Li M., Botos I., Wlodawer A., Gustchina A. (2019) *FEBS OpenBio (ИФ 4.739)*, 9, 1536-1551. DOI: 10.1002/2211-5463.12691.

Botos I.,..., Kudzhaev A.M., Rotanova T.V., ..., Gustchina A., Wlodawer A. (2019) *Curr. Res. Struct. Biol. (ИФ 7,052)*, 1, 13-20. doi.org/10.1016/j.crstbi.2019.10.001.

СОЗДАНИЕ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ АНАЛОГОВ ГОРМОНАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ (рч-ТТГ, рч-ФСГ, рч-ЛГ) СОВМЕСТНЫЙ ПРОЕКТ ИБХ РАН И НМИЦ ЭНДОКРИНОЛОГИИ



Первичная и модель третичной структуры тиротропина-альфа с рецептором. Три сайта гликозилирования окрашены в цвета их основной цепи: **зеленый для α -субъединицы** и **фиолетовый для β -субъединицы**

Цель: организация импортозамещающего производства ГЛС, доклинических и клинических исследований, получение регистрации в РФ и клиническом применении (эндокринологии, онкологии, гинекологии).

рчТТГ необходим для послеоперационной диагностики и терапии радиоактивным йодом на фоне кратковременного высокого уровня ТТГ. Позволяет избежать гипотиреоза и его возможных осложнений и снижает лучевую нагрузку на костный мозг, слюнные железы, гонады, сетчатку глаза и др.

СТАДИЯ РАЗРАБОТКИ:

- 1. рч-ТТГ и рч-ЛГ – НИОКР**
Срок реализации проекта до стадии клинических исследований – 3 года.
- 2. рч-ФСГ – Препарат прошел доклинические исследования.**
Срок реализации клинических исследований 3 года.

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ БИОМАРКЕР С ОСТАТКОМ Ala В ТРЕТЬЕЙ ПОЗИЦИИ ХРОМОФОРОБРАЗУЮЩЕЙ ТРИАДЫ. РЕНТГЕНОСТРУКТУРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

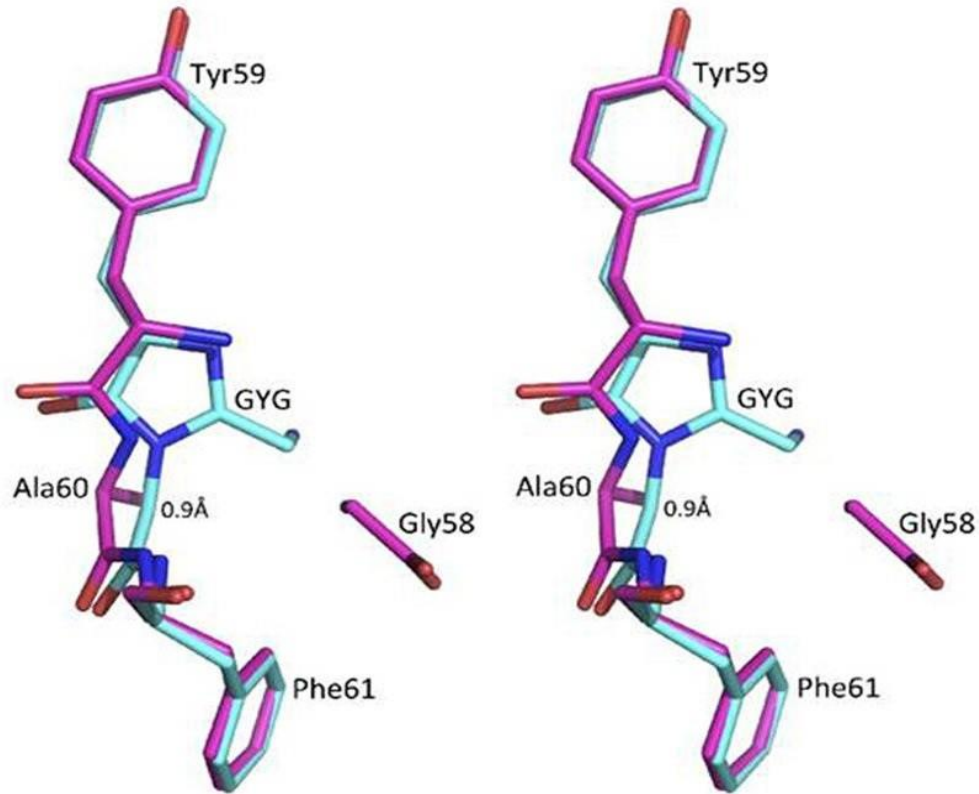
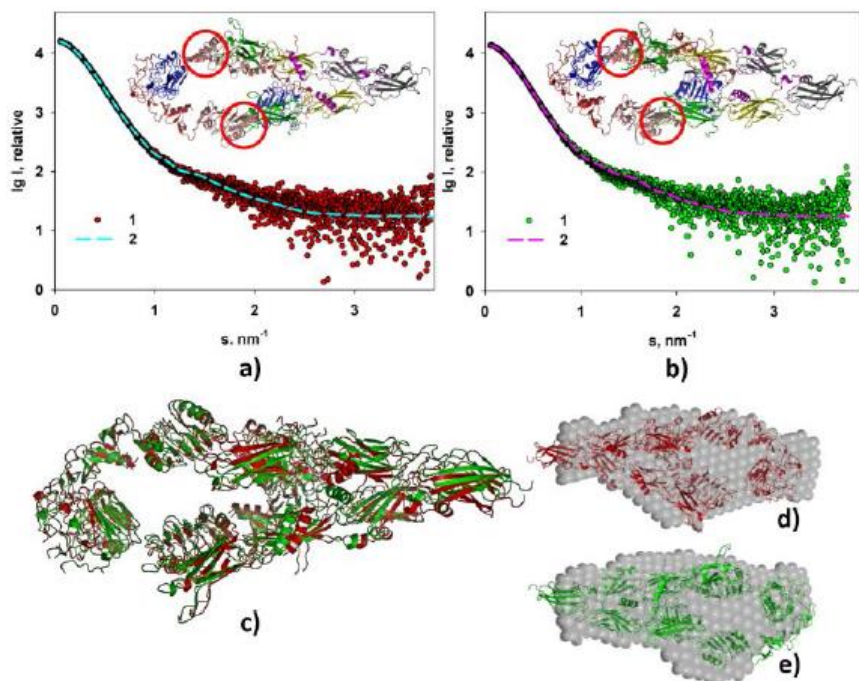


Рис. Стереизображение хромофоров двух белков из группы хордовых *Branchiostoma floridae* [нефлуоресцентный LanFP6A (показан фиолетовым цветом) и флуоресцентный LanFP10A (циановым)] с остатком Ala в третьей позиции хромофоробразующей триады

Методом рентгеноструктурного анализа установлены пространственные структуры и структурно-функциональная взаимосвязь четырех флуоресцентных белков, LanFP6G, LanFP6A, LanFP10G и LanFP10A, из малоизученной группы хордовых (*Branchiostoma floridae*) с разрешением 1.20, 1.35, 1.30 и 1.81 Å, соответственно.

Впервые в семействе GFP подобных белков установлена структура флуоресцентного LanFP10A, у которого в третьей позиции зрелого хромофора находится остаток Ala вместо строго консервативного остатка Gly.

Muslinkina L и др. (2019) Structural Factors Enabling Successful GFP-Like Proteins with Alanine as the Third Chromophore-Forming Residue. *J Mol Biol* (IF 5.067)



Моделирование структуры эктодомена IRR на основе данных SAXS при pH 7.4 и 9.0.

The dimeric ectodomain of the alkali-sensing insulin receptor–related receptor (ectoIRR) has a drop-like shape.

Shtykova EV et al (2019) *J Biol Chem*.

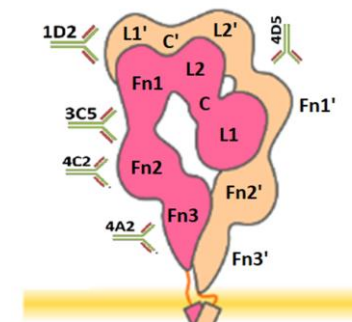
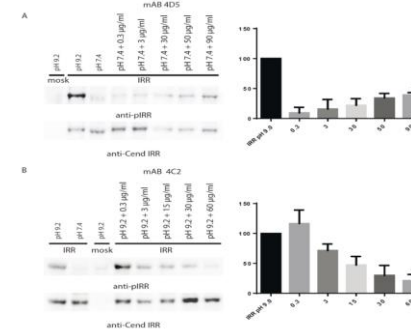
Optimization of Heterologous Expression of Insulin Receptor-Related Receptor Ectodomain. Mozhaev AA et al. (2019)

Dokl Biochem Biophys.

The Hybrid Protein of the Alkaline Sensor IRR and the Fluorescent Protein GFP Retains the Functional Activity of the Receptor. Mozhaev AA et al. (2019) *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*

Используя новую методику очистки эктодомена рецепторной тирозинкиназы IRR мы смогли уточнить современными рентгеноструктурными методами (SAXS) и атомно-силовой микроскопией структуру внеклеточной части этого рецептора в растворе. Мы показали, что форма эктодомена полностью отличается от опубликованной трехмерной структуры эктодомена рецептора инсулина, который представляет собой лямбда-образный симметричный комплекс. Также оказалось, форма молекулы эктодомена IRR при pH 7,4 и pH 9,0 практически идентичны. Это можно интерпретировать, что подщелачивание среды и активация рецептора сопровождаются локальными перестройками и вращениями внутри структуры макромолекулы, которые не изменяют ее общую форму. Эти результаты также были подтверждены атомно-силовой микроскопией.

Далее нами была получена панель из шести моноклональных антител против рекомбинантного внеклеточного домена человеческого IRR. В рамках этой работы мы определили сайты связывания этих антител с полноразмерным рецептором IRR используя набор мутантов IRR с заменой его внеклеточных доменов на аналогичные из IR, а также с точечными мутациями. Было показано, что антитела 3C5 и 1D2 не влияют на активацию IRR, но при нейтральном pH антитело 4D5 способно активировать IRR, тогда как инкубация IRR с антителом 4C2 приводит к ингибированию активации IRR слабощелочной средой. Таким образом, антитело 4D5 представляет собой активатор IRR, а антитело 4C2 является ингибитором IRR. Эти свойства антител 4C2 и 4D5 можно в дальнейшем использовать для структурно-физиологической характеристики IRR.



Активация и ингибирование IRR моноклональными антителами

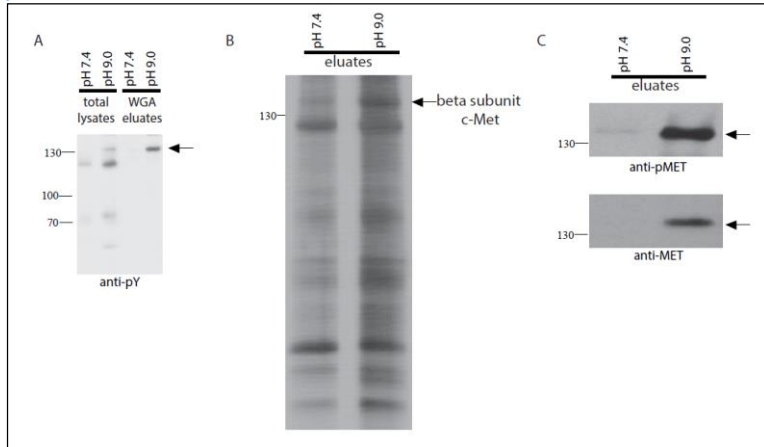


Рис. 1

- Далее для поиска других тирозинкиназ, чувствительных к изменениям pH, была использована программа AlcaPred, изначально разработанная для определения значений pH оптимальных для функционирования растворимых ферментов. Из предсказанных pH-чувствительных тирозинкиназ внимание привлек рецептор ErbB-2. Он относится к семейству рецептора эпидермального фактора роста (EGFR). ErbB-2 в настоящее время рассматривается как “сиротский” рецептор и нами показано, ErbB-2 может быть активирован инкубацией в слабощелочной среде (pH 8–9) в клетках, трансфецированных ErbB-2 (рис. 2). Активация рецептора ErbB-2 щелочью дозо-зависима и не зависит от типа буфера. Эндогенный рецептор ErbB-2 в клеточной линии A431 также активируется внеклеточной щелочной средой.
- Таким образом, мы описали новые лиганд-независимый механизмы активации рецепторов ErbB-2 и рецептора Met.

Serova OV, Orsa AN, Chachina NA, Petrenko AG, Deyev IE “c-Met receptor can be activated by extracellular alkaline medium.” *J Recept Signal Transduct Res.* (ИФ 1.775) 2019 Jun 19:1-6. doi: 10.1080/10799893.2019.1620775.

Serova OV, Chachina NA, Gantsova EA, Popova NV, Petrenko AG, Deyev IE. “Autophosphorylation of Orphan Receptor ERBB2 Can Be Induced by Extracellular Treatment with Mildly Alkaline Media” *Int J Mol Sci.* (ИФ 4.183) 2019 Mar 26;20(6).

Ранее мы обнаружили, что рецепторные тирозинкиназы могут быть активированы небелковым агонистом, а именно “сиротский” рецептор IRR (insulin receptor-related receptor) активируется в щелочной среде и является сенсором pH.

- Для поиска подобных рецепторов изначально проводили обработку различных клеточных линий раствором с щелочным pH, и оценивали изменение фосфорилированных белков в сравнении с нейтральным pH. В линии клеток CAKI-1 обнаружили реакцию на обработку в виде фосфорилирования белков. Используя иммуноаффинную хроматографию с антителами на фосфотирозин и последующую идентификацию белков с помощью масс-спектрометрии, мы показали, что этот сигнал дает рецепторная тирозинкиназа c-Met (или Met), также называемая рецептором фактора роста гепатоцитов (рис. 1). Активация Met щелочью происходила при pH > 8,0 и была дозо-зависима, а также не зависела от типа буфера.

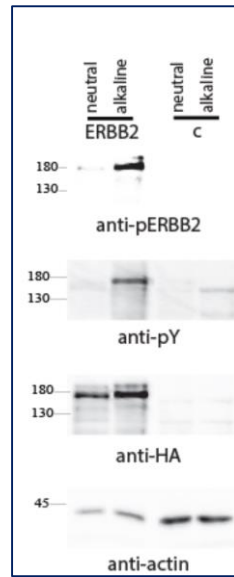
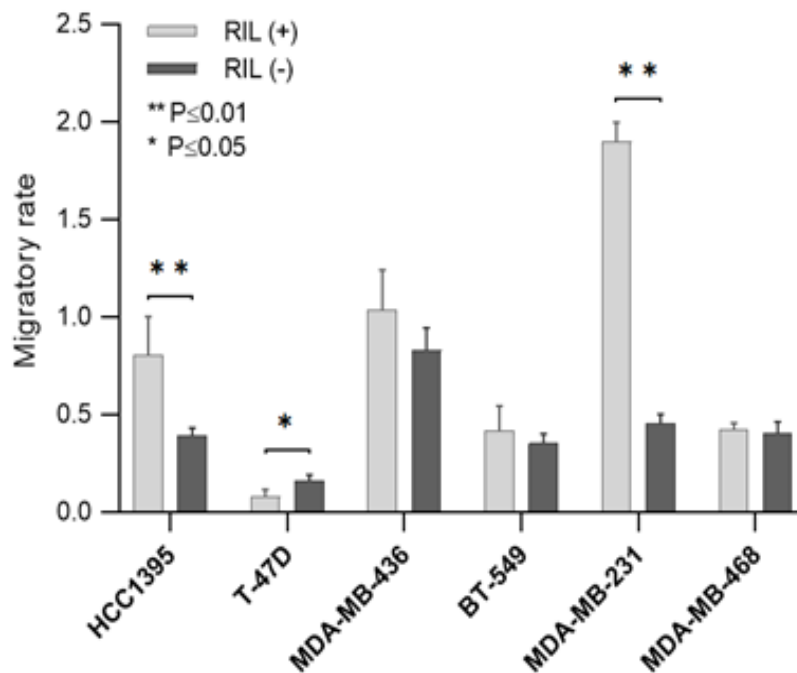
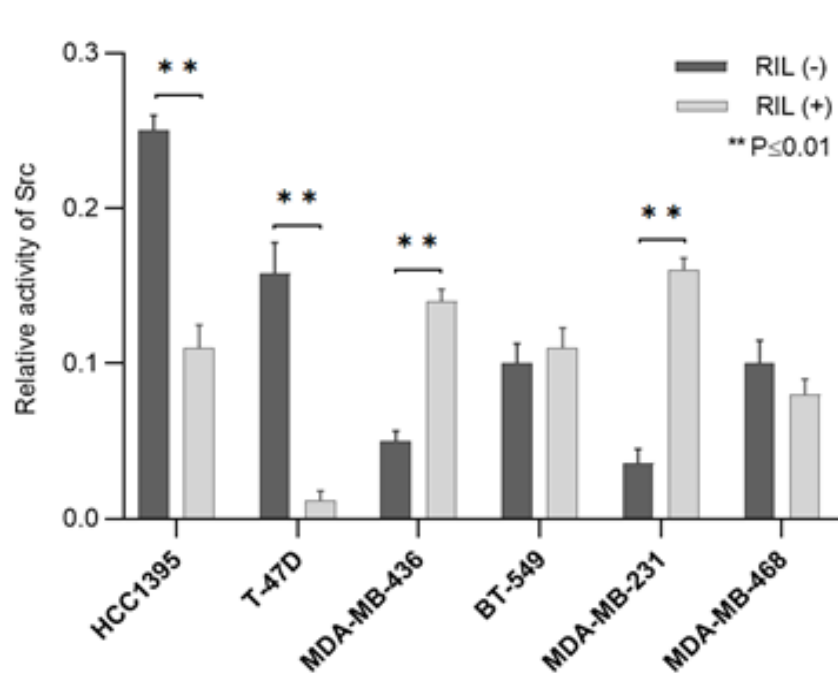


Рис. 2

ВЛИЯНИЕ RIL-ЗАВИСИМОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПРОТООНКОГЕНА c-Src НА ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТЬ КЛЕТОК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ



D.S. Kravchenko, A.E. Ivanova, E.S. Podshivalova, and S.P. Chumakov. PDLIM4/RIL-mediated regulation of Src and malignant properties of breast cancer cells, *Oncotarget*, 2019, accepted 12/16/2019, 1-9.

А.Е. Иванова, Д.С. Кравченко, С.П. Чумаков. Модифицированный лентивирусный репортер для магнитной сепарации раковых стволовых клеток, *Молекулярная биология*, 2019, 53 (4), 1-8

Ген RIL/PDLIM4 кодирует высококонсервативный адаптерный белок, относящийся к семейству ALP/Enigma. RIL преимущественно рассматривается в роли антионкогена; единственная модель, позволяющая связать нарушения его экспрессии с процессами развития рака, описывает онкосупрессорный механизм функционирования RIL, основанный на концепции RIL-опосредованной инактивации тирозинкиназы c-Src. В ходе проведенной работы продемонстрировано отсутствие корреляции между уровнем экспрессии RIL и активностью c-Src в клетках различных линий рака молочной железы (РМЖ); полученные результаты подтверждены на панели линий РМЖ с искусственно индуцированным и shRNA-подавленным уровнем RIL. В ряду линий РМЖ напрямую зафиксирован эффект онкогенной активности RIL в условиях *in vitro* и *in vivo*: обнаружена ассоциация высокого уровня экспрессии RIL с увеличением миграционной активности клеток, а также повышением интенсивности формирования и метастазирования ортотопических ксенографтов опухолей РМЖ.





ОТДЕЛ ИММУНОЛОГИИ (рук. академик Р.В. Петров)

ИФ 39,1

- **Лаборатория клеточных взаимодействий**
А.М. Сапожников

ИФ 103

- **Лаборатория молекулярной иммунологии**
С.М. Деев

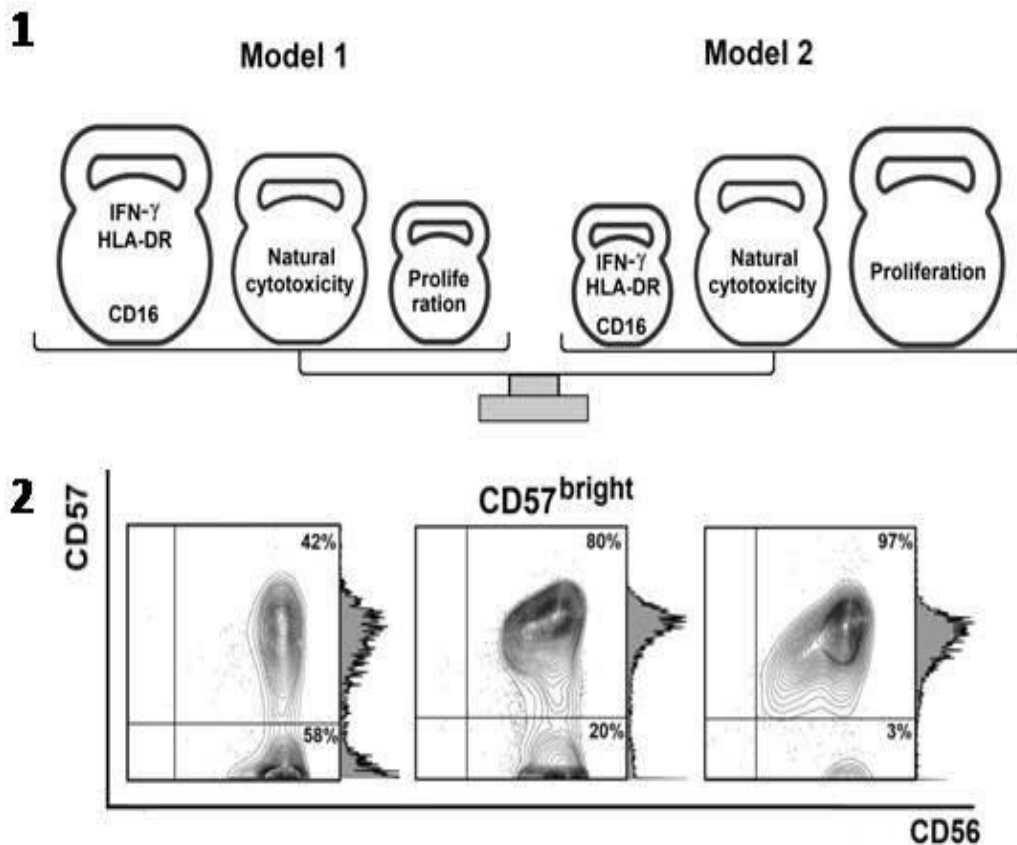
ИФ 0

- **Лаборатория молекулярной тераностики**
В.И. Мартынов

ИФ 4,2

- **Группа онконанотехнологий**
А.В. Звягин

РАЗРАБОТАН МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ КЛОНОВ НК-КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ IL-2 И ФИДЕРНЫХ КЛЕТОК K562-mbIL21, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ МЕМБРАНОСВЯЗАННЫЙ IL-21

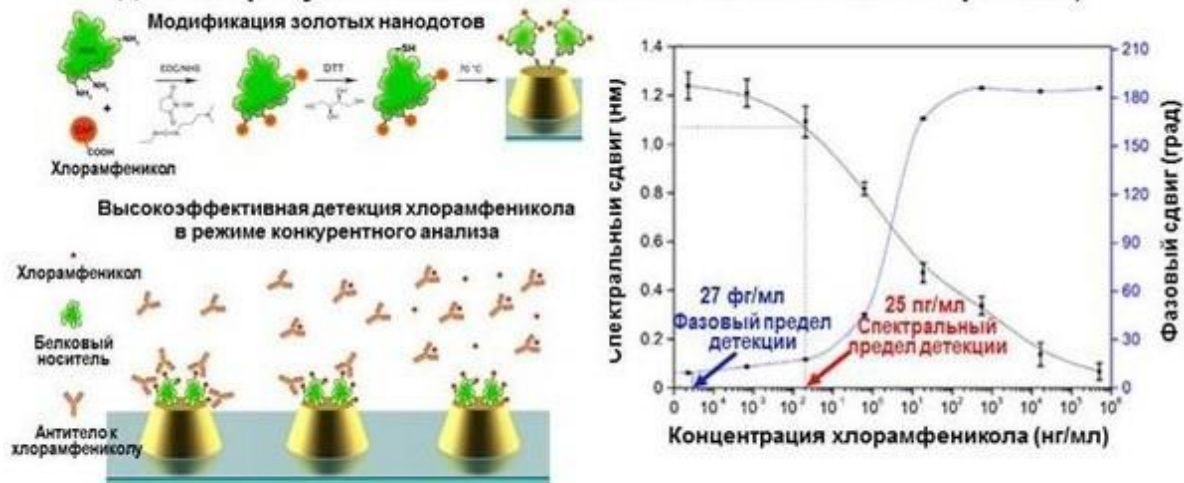


- С использованием разных моделей культивирования клонов выявлено, что условия культивирования (частота рестимуляции с помощью фидерных клеток) влияет на фенотип, функциональные характеристики, уровень экспансии и продолжительность жизни клонов, которая может достигать 14 недель.
- Маркер CD57 может полностью исчезать с клеточной поверхности CD57-позитивных НК-клеток при культивировании в условиях стимуляции IL-2/K562-mbIL21.
- Экспрессия рецептора NKG2A может возникать *de novo* в потомстве изначально NKG2A-негативных НК-клеток.

Streltsova MA и др. (2019) Recurrent Stimulation of Natural Killer Cell Clones with K562 Expressing Membrane-Bound Interleukin-21 Affects Their Phenotype, Interferon- γ Production, and Lifespan. *Int J Mol Sci* (ИФ 4.183)

Streltsova MA и др. (2018) Analysis of NK cell clones obtained using interleukin-2 and gene-modified K562 cells revealed the ability of. *PLoS One* (ИФ 2.776)

Биосенсор- преобразователь Фурье на основе золотых нанодотов для сверхчувствительного анализа в сложных матриксах)



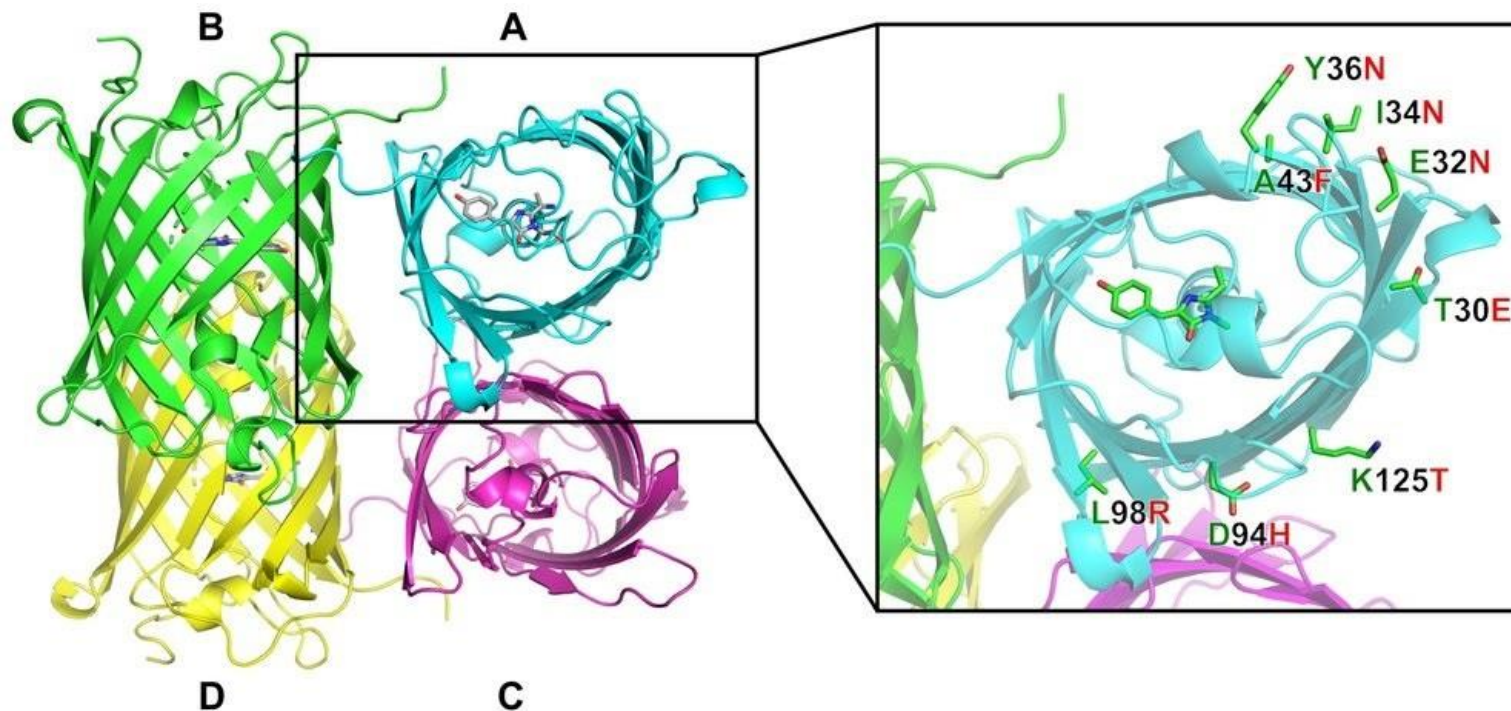
Золотые наностержни, покрытые HER2-специфичным дарпином



- На основе периодических золотых наноструктур (нанодотов) создан биосенсор - преобразователь Фурье, позволяющий достигать сверхвысокой чувствительности анализа соединений (10^{-15} г/мл) в биологических средах.
- Разработанная методология позволит решать задачи высокочувствительного анализа целевых соединений в сложных матриксах, в том числе, гормонов и других биорегуляторов, действующих в очень низких концентрациях (допинг-контроль), высокотоксичных веществ (биотоксинов), патогенов (для задач биобезопасности, борьбы с биотерроризмом).
- Впервые в мире получены золотые наностержни, покрытые опухолеспецифичным адресным модулем DARPin, которые находят опухолевые клетки определенного молекулярного профиля и подавляют их рост при облучении инфракрасным светом в «окне прозрачности биоткани» (IC_{50} 3.4 нМ).

Proshkina G и др. (2019) DARPin_9-29-Targeted Mini Gold Nanorods Specifically Eliminate HER2-Overexpressing Cancer Cells. *ACS Appl Mater Interfaces* (ИФ 8.456)

Kabashin AV и др. (2019) Phase-Responsive Fourier Nanotransducers for Probing 2D Materials and Functional Interfaces. *Adv Funct Mater* (ИФ 15.621)



На примере двух высокоомологичных флуоресцентных белков из *Zoanthus* sp. (zoanGFP и zoan2RFP) определены аминокислотные остатки (а.к.о.), участвующие в превращении белка с зеленой флуоресценцией (GFP) в красный флуоресцентный белок (RFP). Нами был проведен мутагенез zoanGFP, в результате которого внутренние аминокислоты (а.к.о.) оказались идентичными zoan2RFP. Однако полученный мутант zoanGFPmut претерпевал лишь частичное превращение в красную форму. С целью выяснения дополнительных факторов, влияющих на созревание RFP, с помощью сравнительной молекулярной динамики zoanGFPmut и zoan2RFP были выявлены а.к.о. на поверхности белка, потенциально влияющие на расположение и подвижность а.к.о. вокруг хромофора. Сайт-направленный мутагенез этих внешних а.к.о. подтвердил их важную роль в биосинтезе хромофора RFP.





ОТДЕЛ СТРУКТУРНОЙ БИОЛОГИИ (рук. д.х.н. А.С. Арсеньев)

ИФ 63,4

- **Лаборатория биомолекулярной ЯМР-спектроскопии**
А.С. Арсеньев

ИФ 44,4

- **Лаборатория моделирования биомолекулярных систем**
Р.Г. Ефремов

ИФ 32,3

- **Лаборатория оптической микроскопии и спектроскопии биомолекул**
А.В. Феофанов

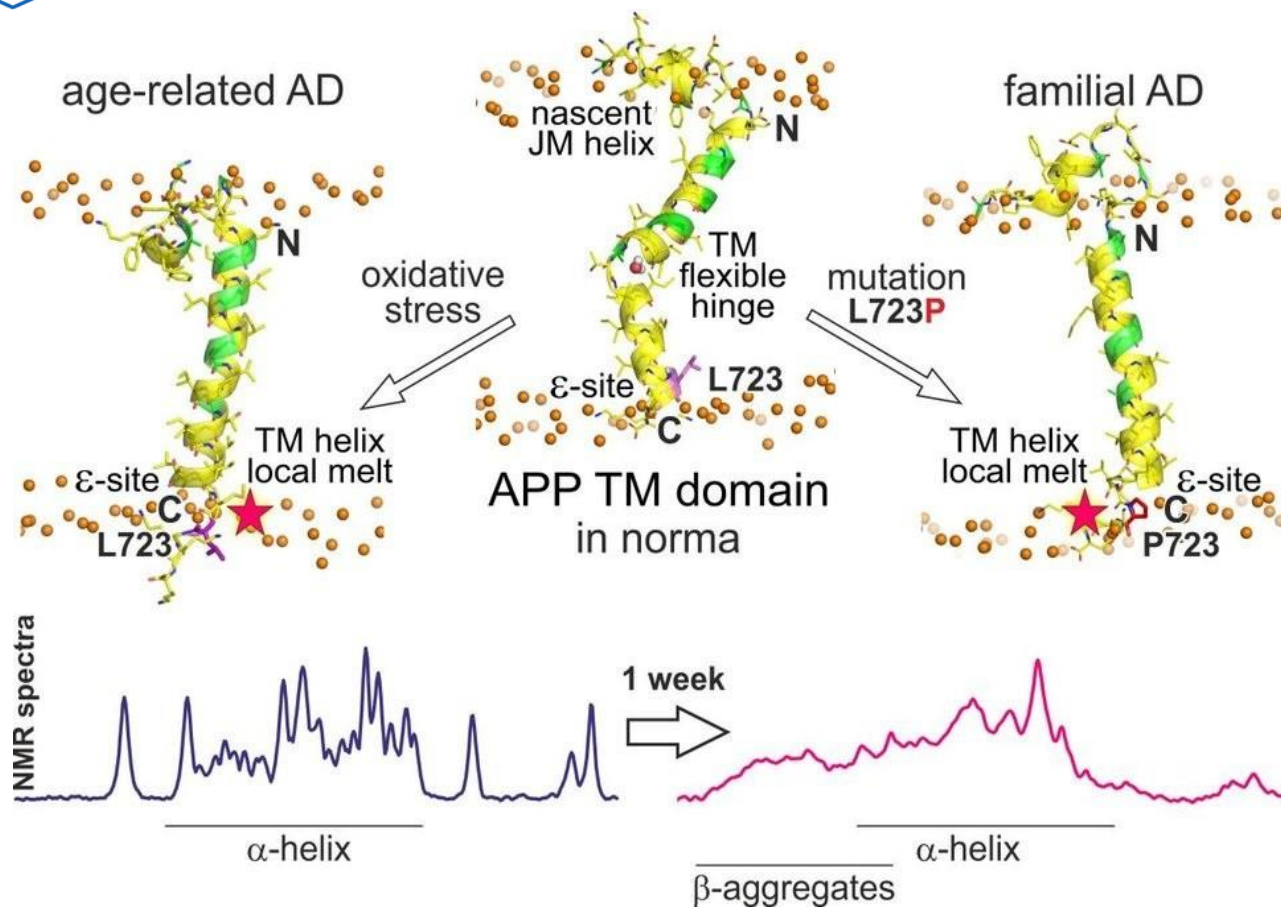
ИФ 9,6

- **Лаборатория структурной биологии ионных каналов**
З.О. Шенкарев

ИФ 8

- **Группа анализа структуры мембранных белков *in silico***
А.О. Чугунов

СТРУКТУРНЫЕ ОСНОВЫ ВЛИЯНИЯ ПАТОГЕННЫХ МУТАЦИЙ В ТРАНСМЕМБРАННЫХ ДОМЕНАХ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ



Мутации в мембранных белках часто ассоциированы с патогенными процессами в организме человека, в том числе с нейродегенеративными и онкогенными заболеваниями.

При помощи белковой инженерии, ЯМР-спектроскопии и компьютерного моделирования раскрыт простой молекулярный механизм развития болезни Альцгеймера (AD), связанный с влиянием семейной «Австралийской» мутации L723P на структурно-динамические свойства трансмембранного (TM) сегмента белка-предшественника β -амилоида (APP).

Мутация приводит к аномальному расщеплению белка APP ферментами-секретазами и интенсивному накоплению патогенных форм β -амилоида вокруг нейронов.

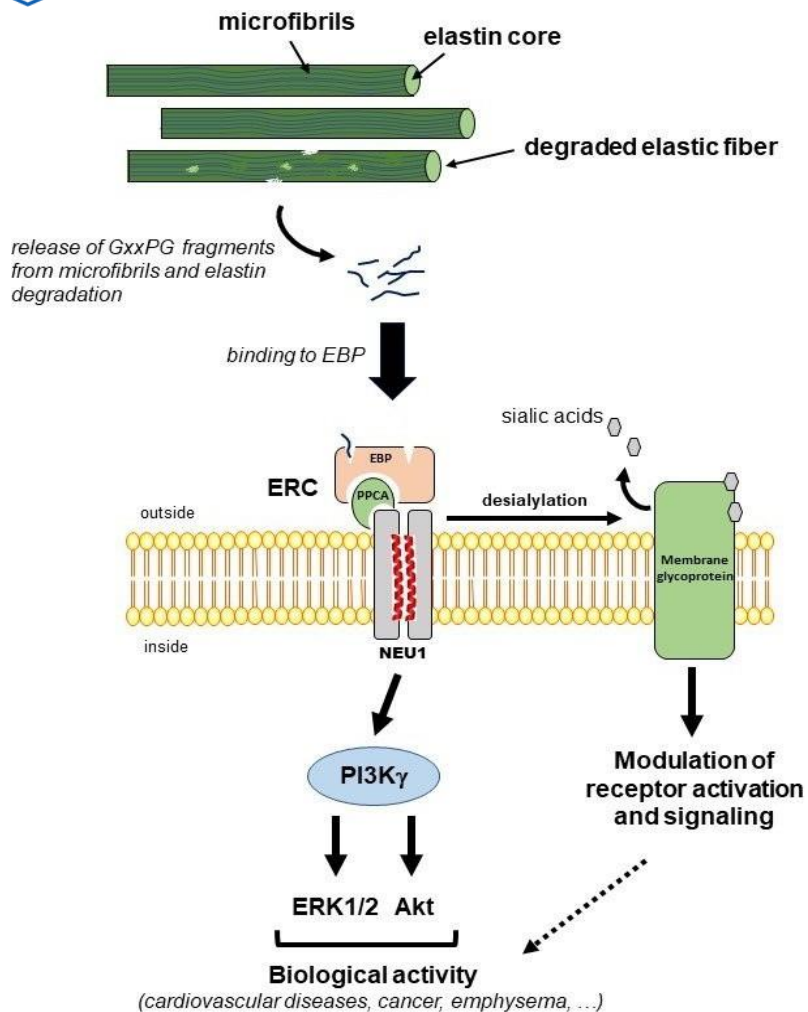
Примечательно, что возрастное развитие болезни можно объяснить схожими механизмами, где вместо мутации будут действовать, например, окислительный стресс или определенный липидный состав мембран нейронов, включая избыток холестерина.

Wang Y и др. (2019) Targeting trimeric transmembrane domain 5 of oncogenic latent membrane protein 1 using a computationally designed peptide. *Chem Sci* (ИФ 9.556)

Bocharov EV и др. (2019) Familial L723P Mutation Can Shift the Distribution between the Alternative APP Transmembrane Domain Cleavage Cascades by Local Unfolding of the η - Cleavage Site Suggesting a Straightforward Mechanism of Alzheimer's Disease Pathogenesis. *ACS Chem Biol* (ИФ 4.374)

Polyansky AA и др. (2019) Atomistic mechanism of the constitutive activation of PDGFRA via its transmembrane domain. *BIOCHIM BIOPHYS ACTA* (ИФ 3.681)

МЕМБРАНО-СВЯЗАННАЯ НЕЙРАМИНИДАЗА-1 КАК КЛЮЧЕВОЙ КОМПОНЕНТ КОМПЛЕКСА РЕЦЕПТОРА

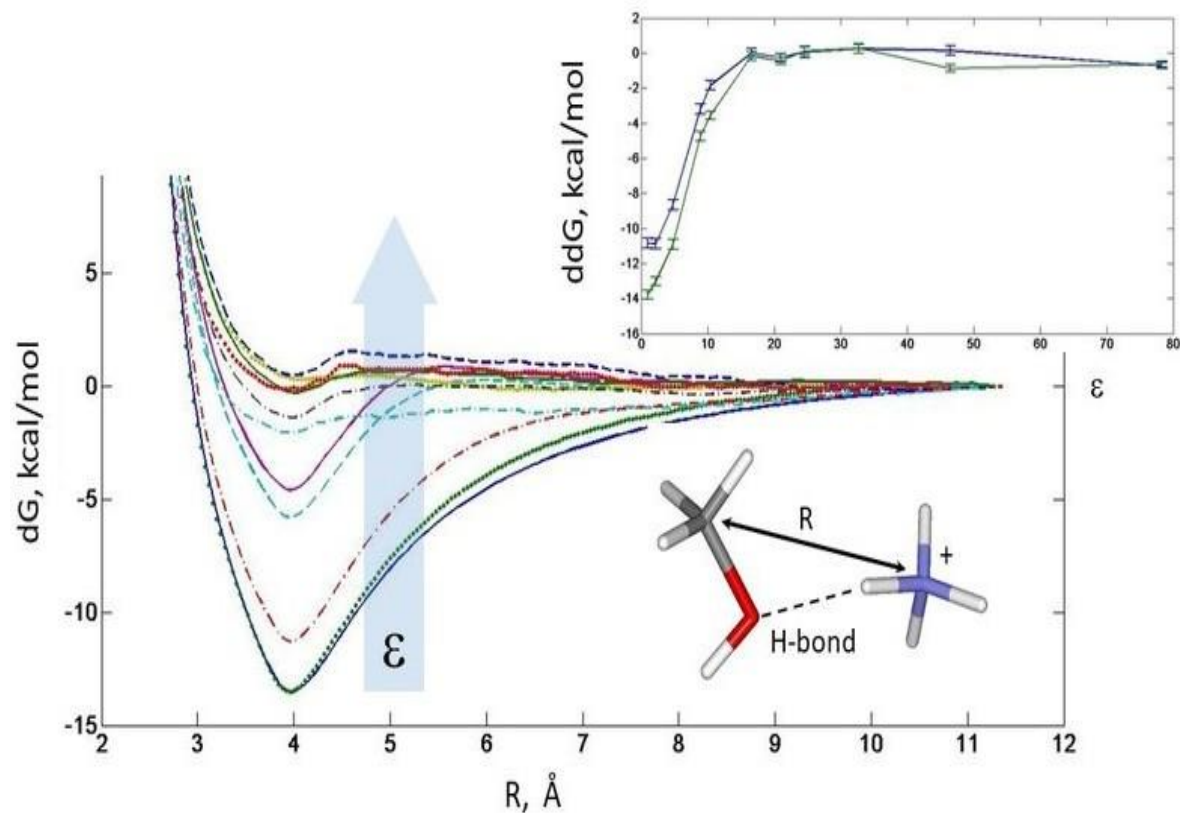


Bennasroune A. et al., (2019) *Matrix Biology*

- Нейраминидаза-1 (Neu-1) человека входит в состав рецептора эластина и, благодаря своей сиалидазной активности, играет важнейшую роль в эластогенезе, регулируя тем самым работу клетки и развитие сосудистых заболеваний, таких как атеросклероз. Neu-1 также служит датчиком деградации эластина, способна регулировать активацию TGF-бета и, возможно, ремоделировать эластичные волокна внеклеточного матрикса.
- В ходе совместных исследований, проводимых в течение ряда лет французско-российским коллективом – исследователями из Университета г. Реймс и ИБХ РАН (Лаб. моделирования биомолекулярных систем), изучены молекулярные механизмы регуляции жизнедеятельности эластичных волокон, ключевую роль в которых играет Neu-1.
- В частности, авторами впервые показано, что Neu-1 не только имеет трансмембранную топологию, но и способна димеризоваться в мембрано-связанном состоянии. Это существенно влияет на активность фермента и всего комплекса рецептора эластина в клетке.

Bennasroune A и др. (2019) Elastic fibers and elastin receptor complex: Neuraminidase-1 takes the center stage. *Matrix Biol* (ИФ 6.986)

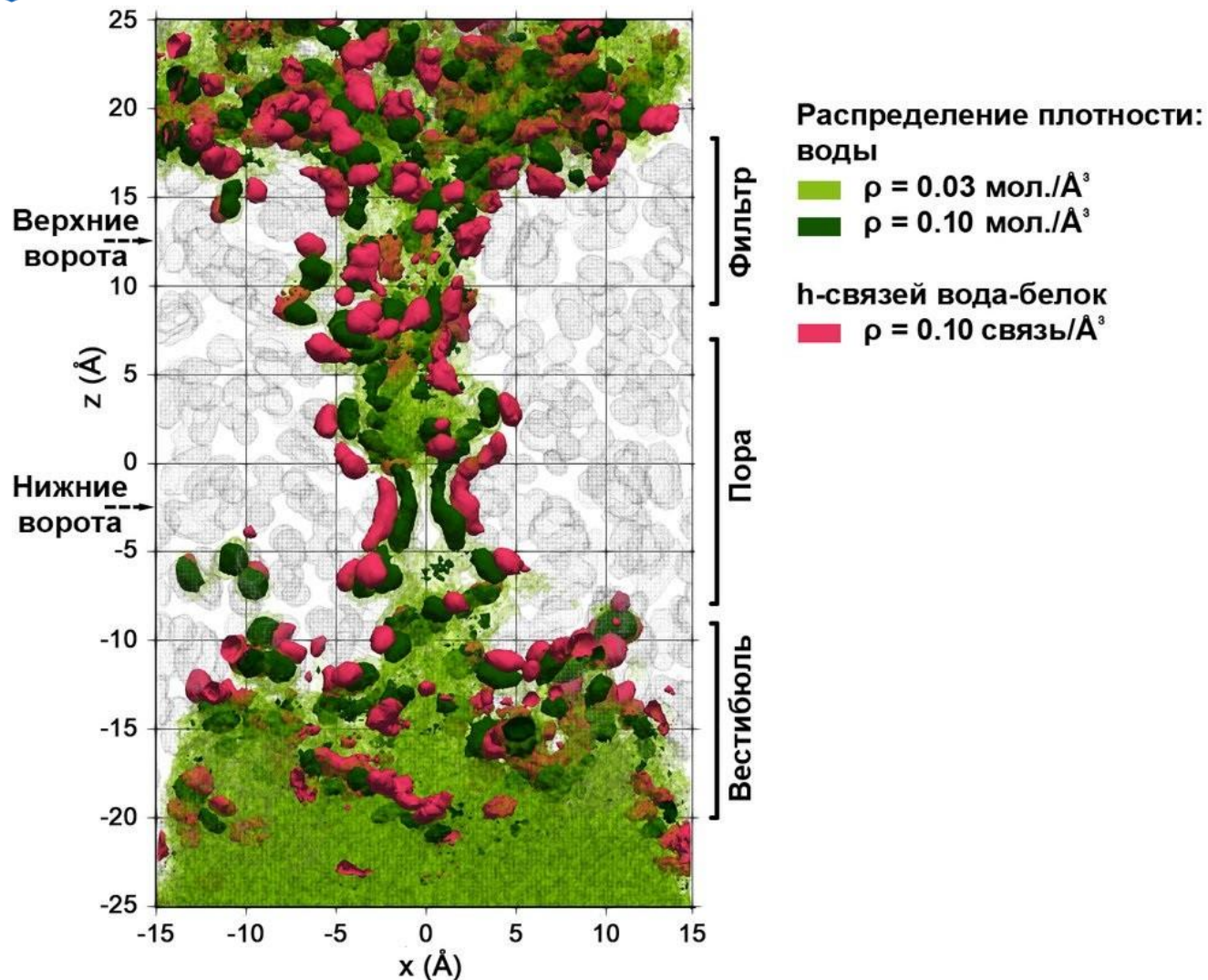
ВЛИЯНИЕ ДИЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СРЕДЫ НА ПАРАМЕТРЫ ВОДОРОДНЫХ СВЯЗЕЙ В БИОМЕМБРАНАХ – ПУТЬ К РАЦИОНАЛЬНОМУ ДИЗАЙНУ НОВЫХ НАНОМАТЕРИАЛОВ



- ❑ Методами атомистического компьютерного моделирования исследована роль диэлектрических свойств среды в формировании водородных связей (Н-связей) в соединениях, имитирующих донорные/акцепторные группы фосфолипидов.
- ❑ Показано, что величина свободной энергии образования комплексов с Н-связями (ddG) критическим образом зависит от значения локальной диэлектрической проницаемости окружения (ϵ), которое, в свою очередь, определяется глубиной расположения соответствующих групп в мембране.
- ❑ Максимальный выигрыш в значениях ddG (~ 11 ккал/моль) наблюдается для взаимодействий донорной NH₃⁺ группы с акцепторными группами C=O и O(H). При этом наиболее сильные Н-связи формируются в неполярном окружении с $\epsilon < 17$.
- ❑ Полученные результаты обеспечивают понимание на молекулярном уровне основ структурно-динамического поведения клеточных мембран и позволяют осуществлять рациональный дизайн искусственных мембранных наноматериалов с заданными свойствами.

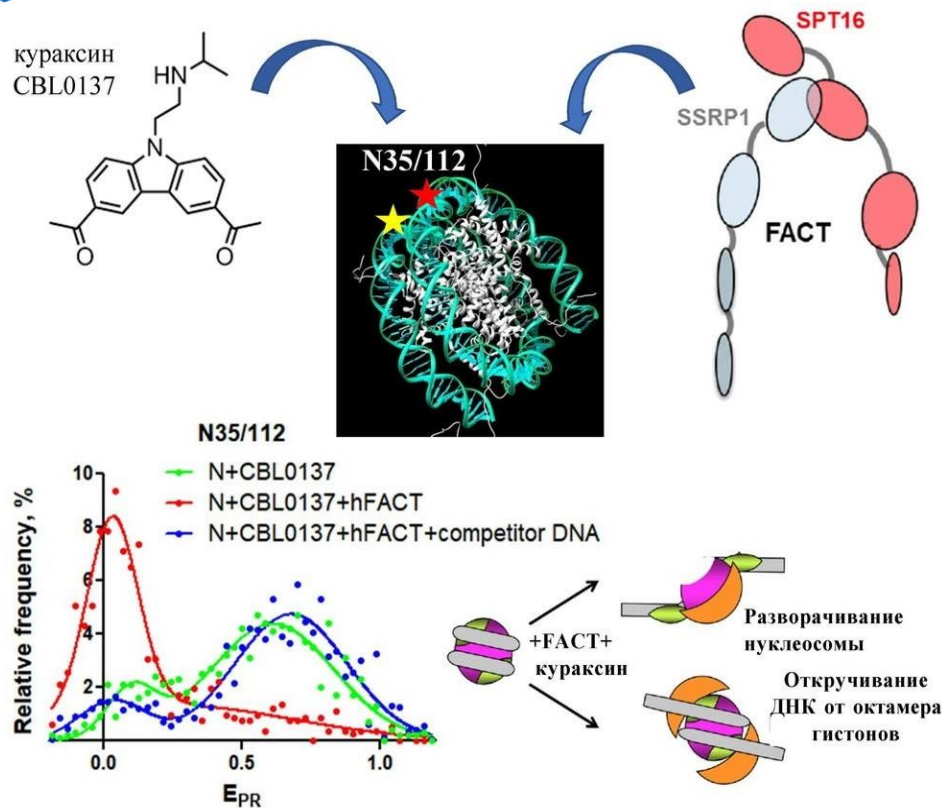
Efremov RG (2019) Dielectric-Dependent Strength of Interlipid Hydrogen Bonding in Biomembranes: Model Case Study. *J Chem Inf Model* (ИФ 3.966)

«АНОМАЛЬНАЯ» ДИНАМИКА ВОДЫ В ТРАНСМЕМБРАННОЙ ПОРЕ ИОННОГО КАНАЛА TRPV1



- Методами компьютерного моделирования на примере ионного канала TRPV1 показано, что поведение воды в биологических порах нанометрового масштаба радикально отличается как от поведения свободной воды, так и от воды вблизи поверхности белка. В ограниченном объеме канала (~ 60 молекул воды) вода локализована в компактных областях вблизи некоторых полярных групп белка. Времена жизни молекул воды в областях локализации в 1,5-3 раза больше, чем вблизи аналогичных групп на поверхности белка. Эти эффекты могут играть важную роль в механизмах функционирования ионных каналов.
- В частности, локализация воды вблизи полярных групп Asn676 в канале TRPV1 облегчает гидратацию т.н. «нижних ворот» гидрофобной поры, понижая тем самым энергетический барьер для прохождения ионов и молекул воды через канал.

Trofimov YA и др. (2019) Confined Dynamics of Water in Transmembrane Pore of TRPV1 Ion Channel. *Int J Mol Sci* (ИФ 4.183)



Chang et al. Science Advances, 2018, 4 (11), eaav2131
Kantidze et al. Nat Commun., 2019,10(1):1441.

Данные spFRET-анализа подтверждают гипотезу о том, что противоопухолевый агент кураксин, а именно его производное CBL0137, может влиять на дальние взаимодействия энхансеров с промоторами в хроматине, нарушая структуру нуклеосом или влияя на структуру и динамику линкерной ДНК, поддерживающей эффективные взаимодействия энхансеров с промоторами (Kantidze et al., Nat Commun., 2019,10(1):1441).

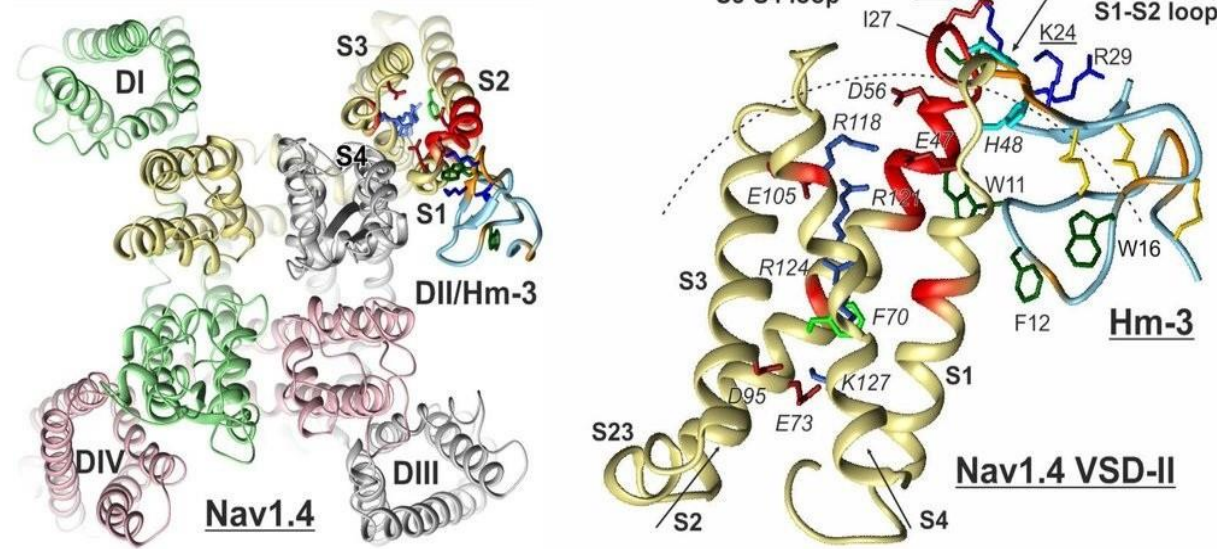
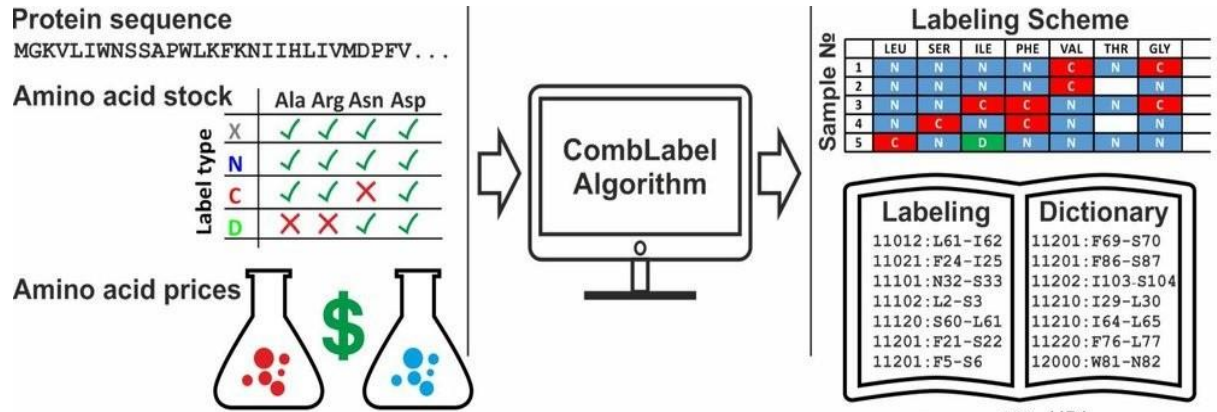
Данные показывают, что CBL0137 привлекает hFACT человека (белковый фактор, который облегчает транскрипцию хроматина) к нуклеосомам, опосредует hFACT-индуцированное масштабное, частично обратимое разворачивание нуклеосомы (или раскручивание нуклеосомальной ДНК) и вызывает арест hFACT на нуклеосомах. Этот кураксин-зависимый арест hFACT может быть причиной перераспределения hFACT из транскрибируемых областей хроматина в другие геномные локусы (Chang et al. Science Advances, 2018, 4 (11), eaav2131).

Работа выполнена совместно с сотрудниками Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (М.Е. Валиева, А.В. Любителев, С.В. Разин), Института биологии гена РАН (Кантидзе О.Л., Лужин А.В., Голов А.К., Величко А.К.), Fox Chase Cancer Center, USA (Nizovtseva EV, Studitsky VM, Kulaeva, O.I., Chang, H.-W.), Roswell Park Comprehensive Cancer Center, USA (Gurova KV, Safina A., Wang, J.), Eunice Kennedy Shriver National Institute for Child Health and Human Development, USA (Chereji, R.V.), Rutgers University, USA (Morozov, A.V.).

Kantidze OL и др. (2019) The anti-cancer drugs curaxins target spatial genome organization. **Nat Commun (ИФ 11.878)**

Chang HW и др. (2018) Mechanism of FACT removal from transcribed genes by anticancer drugs curaxins. **Sci Adv (ИФ 12.804)**

КОМБИНАТОРНОЕ СЕЛЕКТИВНОЕ ВВЕДЕНИЕ ИЗОТОПОВ ^{13}C И ^{15}N УПРОЩАЕТ АНАЛИЗ СПЕКТРОВ ЯМР ПОЗВОЛЯЕТ КАРТИРОВАТЬ ИНТЕРФЕЙС ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ В КОМПЛЕКСАХ МЕМБРАННЫХ РЕЦЕПТОРОВ С ЛИГАНДАМИ



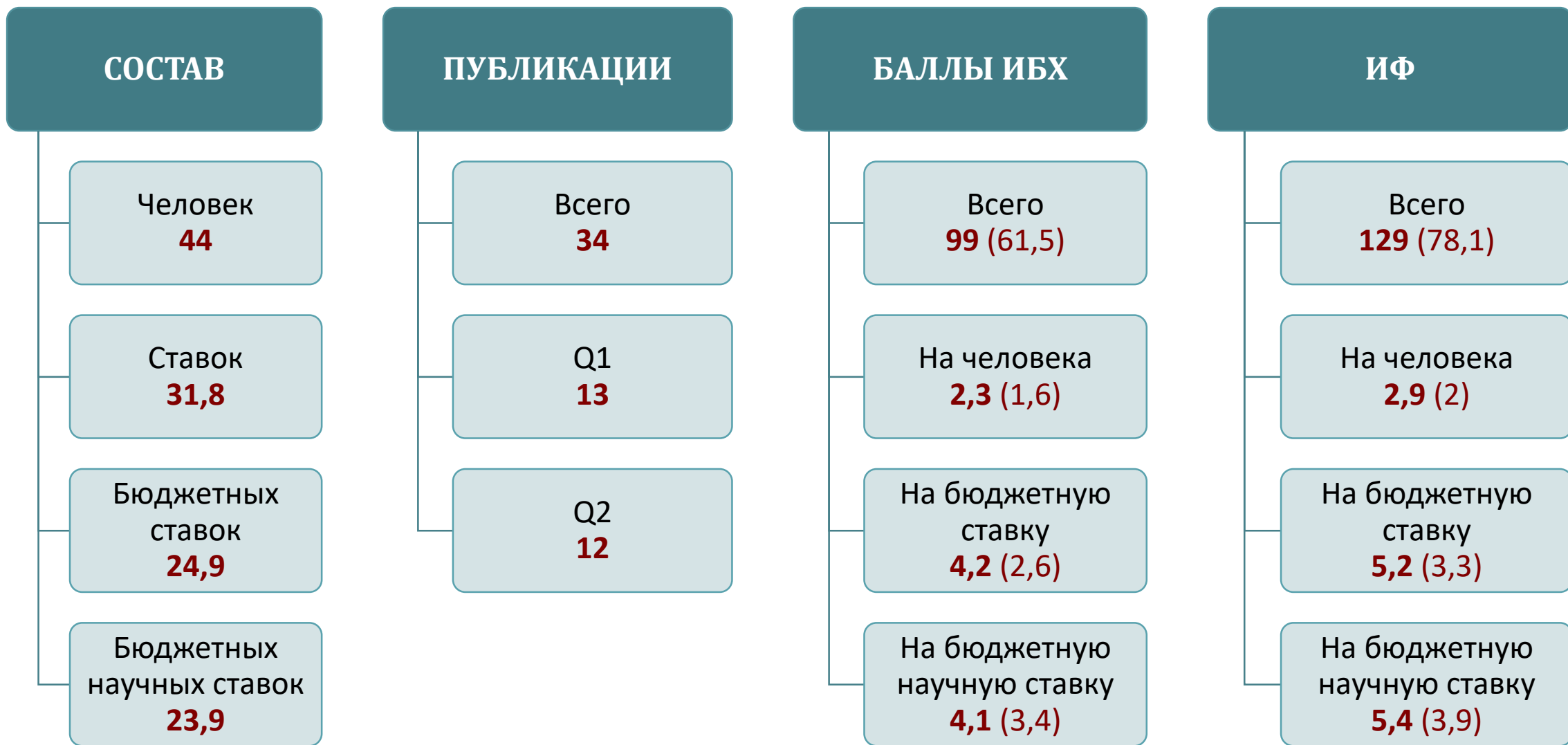
Комбинаторное введение в молекулы белков стабильных изотопов ^{13}C и ^{15}N позволяет значительно упростить анализ спектров ЯМР.

Впервые решена задача и разработан алгоритм CombLabel по расчету схемы комбинаторного введения ^{13}C и ^{15}N меток с минимальной ценой. Применение программы позволило произвести отнесение 50% ЯМР-сигналов основной цепи второго потенциал-чувствительного домена натриевого канала Nav1.4 человека (VSD-II). Токи утечки через мутантные варианты Nav1.4, содержащие замену Arg675Gly в VSD-II, приводят к развитию наследственного заболевания – нормокалемического периодического паралича.

Методом ЯМР спектроскопии определен интерфейс взаимодействия VSD-II с токсином Hm-3 из яда паука *Heriades melloteei*, который способен блокировать токи утечки. В модели комплекса VSD-II/Hm-3, построенной на основании данных ЯМР, токсин связывается с внеклеточной петлей S1-S2, дестабилизируя состояние домена, при котором наблюдаются токи утечки. На примере комплексов токсина Hm-3 с VSD-I и VSD-II канала Nav1.4 показано, что токсины паукообразных могут по-разному взаимодействовать с различными доменами в составе одного натриевого канала.

Myshkin MY и др. (2019) Cell-Free Expression of Sodium Channel Domains for Pharmacology Studies. Noncanonical Spider Toxin Binding Site in the Second Voltage-Sensing Domain of Human Nav1.4 Channel. *Front Pharmacol* (ИФ 3.845)

Myshkin MY и др. (2019) CombLabel: rational design of optimized sequence-specific combinatorial labeling schemes. Application to backbone assignment of membrane proteins with low stability. *J Biomol NMR* (ИФ 2.319)





ОТДЕЛ ГЕНОМИКИ И ПОСТГЕНОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ (рук. академик С.А. Лукьянов)

ИФ 11,3

- **Лаборатория структуры и функций генов человека**
И.П. Чернов

ИФ 20,9

- **Лаборатория биофотоники**
К.А. Лукьянов

ИФ 19,8

- **Лаборатория регуляторной транскриптомики**
Т.Л. Ажикина

ИФ 25,2

- **Лаборатория молекулярных основ эмбриогенеза**
А.Г. Зарайский

ИФ 61,8

- **Группа геномного анализа сигнальных систем клетки**
А.А. Буздин

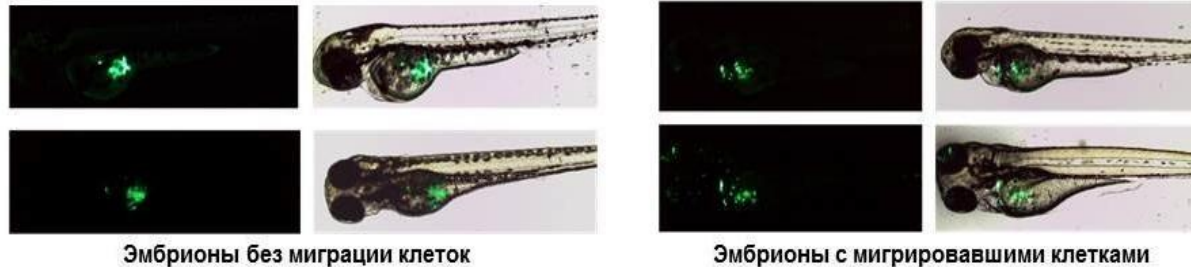
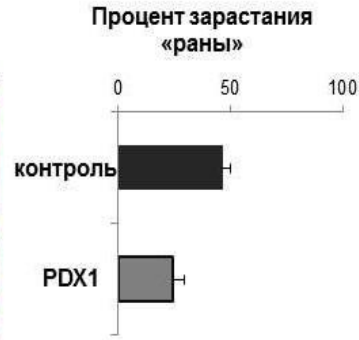
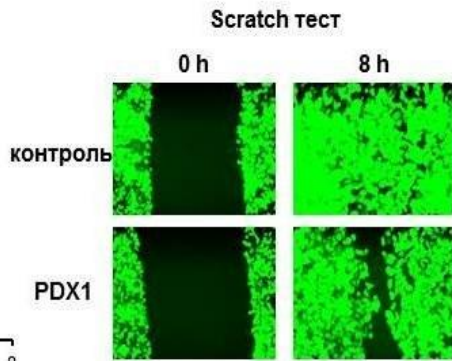
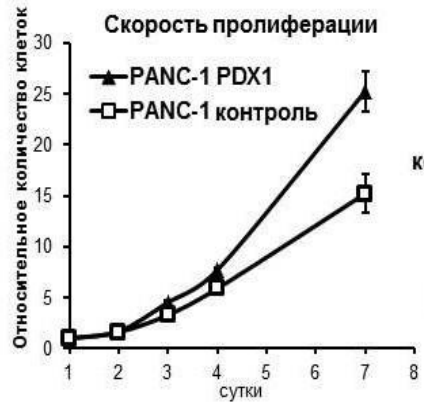
ИФ 0

- **Группа генной иммуноонкотерапии**
И.В. Алексеенко

ИФ 15,8

- **Группа молекулярных меток для оптической наноскопии**
А.С. Мишин

КЛЮЧЕВОЙ ФАКТОР ЭМБРИОГЕНЕЗА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ PDX1 ИНГИБИРУЕТ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ КЛЕТОК РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ



Клетки	PANC-1 ^{Control}			PANC-1 ^{PDX1}		
	без siRNA	siPDX1	siNeg	без siRNA	siPDX1	siNeg
% эмбрионов с миграцией	50%	30%	23%	12,5%	40%	6%

Количество эмбрионов с мигрирующими клетками

Метастазирование является основной причиной смертности при панкреатической протоковой аденокарциноме. Мы *in vitro* исследовали влияние ключевого регулятора развития поджелудочной железы PDX1 на скорость пролиферации и подвижность клеток линии рака поджелудочной железы PANC-1.

Изучение кинетики роста показало, что экспрессия PDX1 существенно увеличивает скорость роста GFP-меченных клеток PANC-1. Влияние PDX1 на способность к миграции оценивали с помощью анализа заживления ран на модели механического повреждения однослойных культур и с использованием Transwell анализа. Эктопическая экспрессия PDX1 приводила к замедлению скорости заживления ран и уменьшала уровень миграции PANC-1 по сравнению с контрольными клетками.

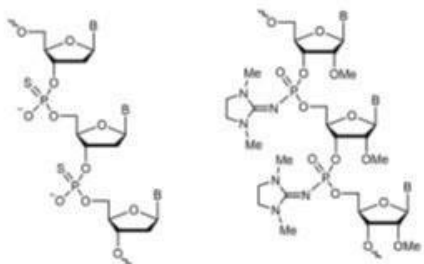
Для оценки возможности влияния экспрессии PDX1 на метастазирование PANC1 *in vivo* использовали эмбрионы *Danio rerio* (совместно с лабораторией белковой инженерии Института молекулярной генетики РАН). Меченные GFP контрольные и экспрессирующие PDX1 клетки линии PANC-1 вводили в область желточного мешка двухдневным эмбрионам *Danio rerio* и через 48 ч анализировали распределение клеток по организмам. У 50% эмбрионов *Danio rerio* контрольные клетки без экспрессии PDX мигрировали в сосуды головы и хвоста.

Миграция PDX1 содержащих клеток была значительно снижена и наблюдалась только в 12,5% случаев. При подавлении экспрессии PDX1 с использованием siRNA мигрировавшие клетки обнаруживали в 40% случаев.

В целом результаты позволяют предположить, что PDX1 подавляет метастазирование раковых клеток.

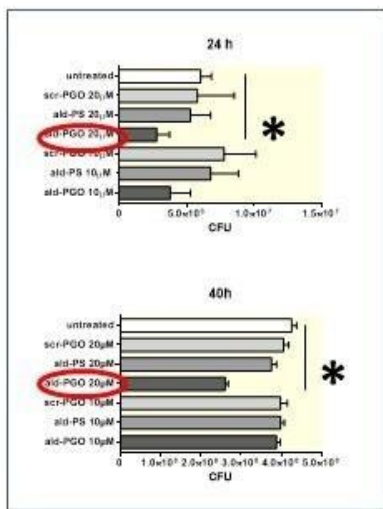
Kondratyeva LG и др. (2019) PDX1, a key factor in pancreatic embryogenesis, can exhibit antimetastatic activity in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Manag Res (ИФ 2.243)*

НОВЫЙ КЛАСС АНТИСМЫСЛОВЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ – ФОСФОРИЛГУАНИДИНОВЫЕ АНАЛОГИ – СПЕЦИФИЧНО ПОДАВЛЯЕТ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА-МИШЕНИ МИКОБАКТЕРИЙ ВНУТРИ МАКРОФАГОВ

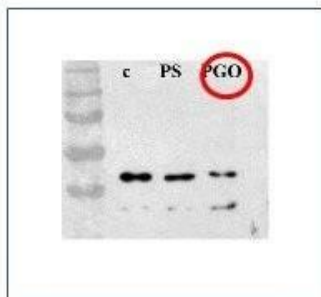


олигонуклеотиддифосфат (PS)

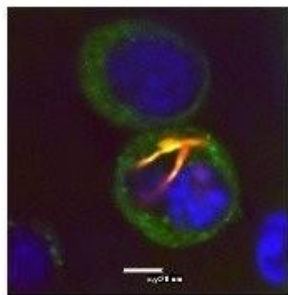
фосфорилгуанидиновый аналог олигонуклеотида (2'-OMe PGO)



Антисенс-PGO замедляет рост *Mycobacterium smegmatis* in vitro

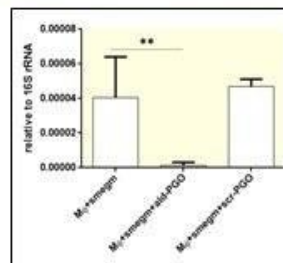


Антисенс-PGO снижает экспрессию гена-мишени



Конфокальная микроскопия макрофагов, инфицированных *M. smegmatis*.

M. smegmatis - красный
FAM-PGO -зеленый,
ядра - синие



Количественное определение экспрессии гена-мишени во внутриклеточной *M. smegmatis*.

Антисенс-PGO проникает в *Mycobacterium smegmatis*, фагоцитированные макрофагами, и специфически воздействует на бактериальные гены-мишени

Фосфорилгуанидин-2'-О-метилрибоолигонуклеотиды (2'-OMe PGOs) представляют собой новый тип незаряженных аналогов РНК. Мы продемонстрировали, что антисмысловой 2'- OMe PGO ингибирует рост *Mycobacterium smegmatis* и подавляет экспрессию целевого гена как на уровне транскрипции, так и на уровне трансляции. 2'-OMe PGO проникает в микобактерии, находящиеся в макрофагах, не оказывая токсического действия на эукариотические клетки, и ингибирует транскрипцию гена-мишени во внутримакрофагальных *M. smegmatis*.

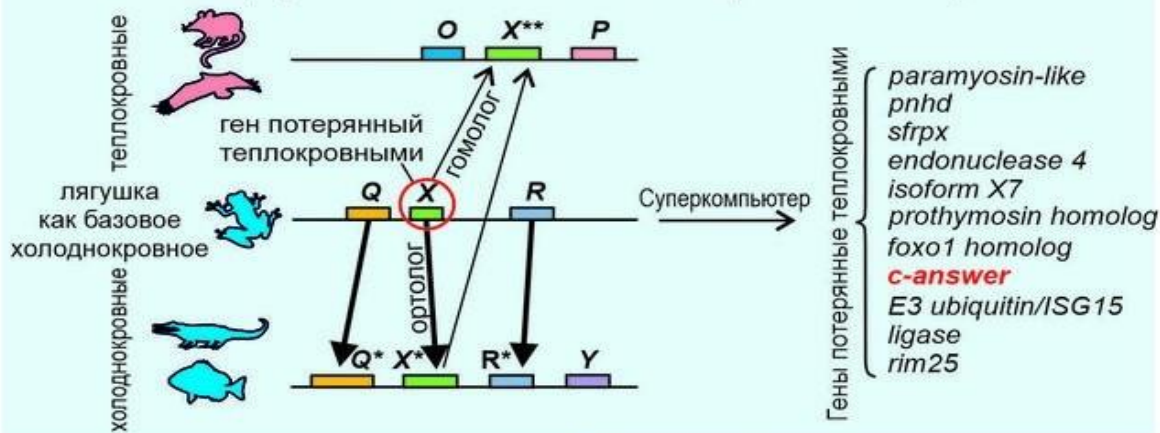
Таким образом, эти новые производные олигонуклеотидов имеют потенциал в качестве антисмысловых терапевтических агентов против туберкулеза, особенно его лекарственно-устойчивых форм.

Skvortsova YV и др. (2019) A new antisense phosphoryl guanidine oligo-2'-O-methylribonucleotide penetrates into intracellular mycobacteria and suppresses target gene expression. *Front Pharmacol* (ИФ 3.845)

НОВЫЙ МОДУЛЯТОР FGF И ADP СИГНАЛИЗАЦИИ c-ANSWER РЕГУЛИРУЕТ РЕГЕНЕРАЦИЮ И РАЗВИТИЕ МОЗГА У ХОЛОДНОКРОВНЫХ ЖИВОТНЫХ, НО ОТСУТСТВУЕТ У ТЕПЛОКРОВНЫХ, ВКЛЮЧАЯ ЧЕЛОВЕКА

Гипотеза: пониженная способность к регенерации и увеличенный конечный мозг у теплокровных могли быть результатами потери генов их предками

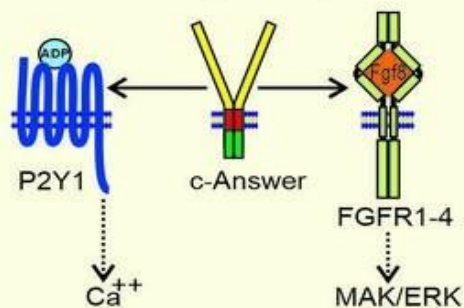
Биоинформатический поиск генов потерянных теплокровными



Нокдаун *c-answer* у лягушки ингибирует регенерацию и экспрессию регулятора вентрального конечного мозга *foxg1*



c-Answer стимулирует активность рецепторов



- В лаборатории молекулярных основ эмбриогенеза была выдвинута гипотеза о том, что потеря теплокровными животными способности к регенерации конечностей и, как компенсация, прогрессивное развитие головного мозга могут быть связаны с потерей предками теплокровных некоторых генов.
- Для поиска таких генов был разработан биоинформатический метод, позволяющий прицельно находить гены, исчезнувшие на определенном этапе эволюции.
- С помощью этого метода был найден ген, кодирующий не известный ранее модулятор FGF и АДФ сигнализации – трансмембранный белок *c-Answer*, стимулирующий регенерацию и влияющий на развитие мозга у холоднокровных, но исчезнувший у теплокровных, включая человека.
- Эффективность нового метода была подтверждена в работе по поиску генов, исчезнувших у долгоживущих млекопитающих.

Rubanov LI и др. (2019) Screening for mouse genes lost in mammals with long lifespans. *BioData Min (ИФ 2.301)*

Korotkova DD и др. (2019) Bioinformatics Screening of Genes Specific for Well-Regenerating Vertebrates Reveals *c-answer*, a Regulator of Brain Development and Regeneration. *Cell Rep (ИФ 7.815)*



СОВПАДЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОК ГЕНОМА И МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПОЗВОЛЯЕТ ОПРЕДЕЛИТЬ СКОРОСТЬ ЭВОЛЮЦИИ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПУТЕЙ

RRE-enriched molecular processes

Posttranscriptional silencing by small RNAs

DNA Metabolism and Chromatin Structure

Sensory Perception and Neurotransmission

Lipids Metabolism

RRE-deficient molecular processes

Immune System

Protein Ubiquitination and Degradation

Cell Adhesion, Migration and Interaction

Metals Metabolism and Ion Transport

Cell Death

General Signaling Pathways

Hormone Signaling Pathways

Мы создали биоинформатический метод RetroSpect, позволяющий измерять скорость эволюции транскрипционной регуляции генов и молекулярных путей исходя из совпадения функциональных эпигенетических меток генома и мобильных элементов.

Мы применили RetroSpect для количественных данных по геномному распределению сайтов связывания транскрипционных факторов и гистоновых меток: H3K4me1, H3K4me3, H3K9ac, H3K27ac, H3K27me3 и H3K9me3.

Анализ открытых баз данных показал, что наиболее быстро эволюционируют процессы (RRE-enriched), связанные с регуляцией микроРНК, обонянием, оплодотворением, иммунным ответом, метаболизмом жирных кислот и детоксикацией. И наоборот, наиболее медленно (RRE-deficient) – с трансляцией белка, транскрипцией РНК, структурой хроматина и молекулярной сигнализацией.

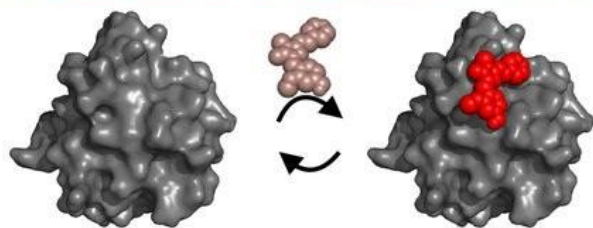
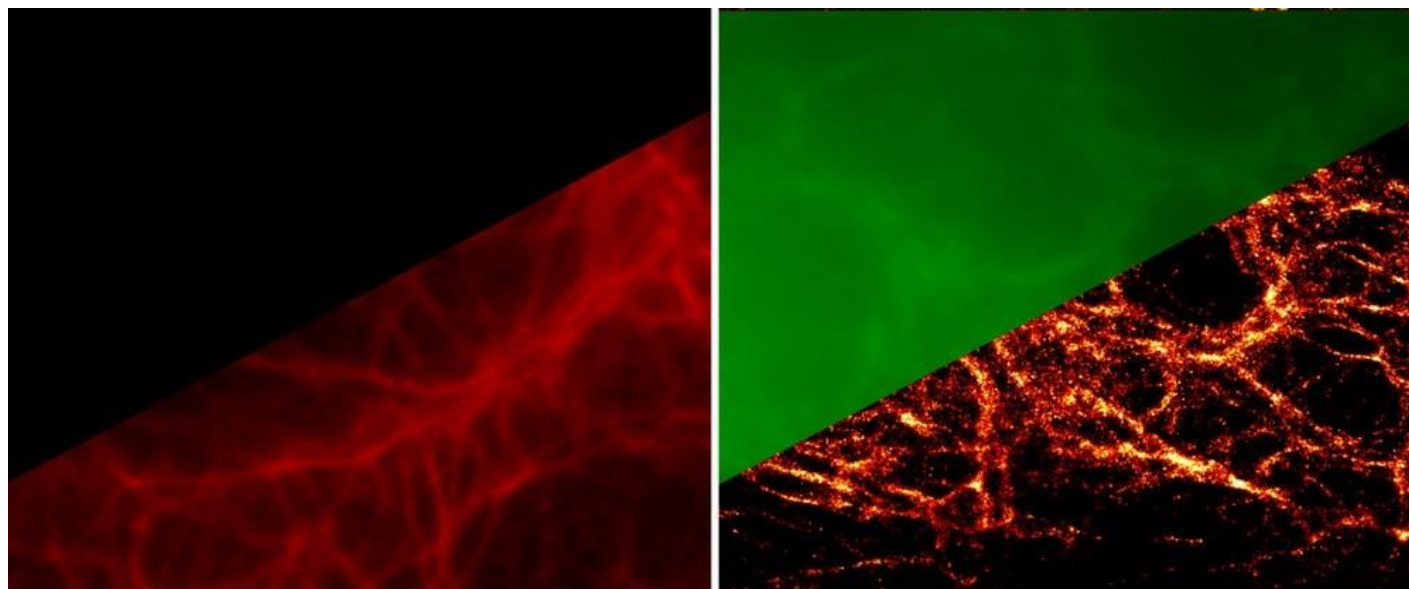
Nikitin D и др. (2019) Retroelement-Linked H3K4me1 Histone Tags Uncover Regulatory Evolution Trends of Gene Enhancers and Feature Quickly Evolving Molecular Processes in Human Physiology. *Cells (ИФ 5.656)*

Igolkina AA и др. (2019) H3K4me3, H3K9ac, H3K27ac, H3K27me3 and H3K9me3 Histone Tags Suggest Distinct Regulatory Evolution of Open and Condensed Chromatin Landmarks. *Cells (ИФ 5.656)*

Nikitin D и др. (2019) Correction: Nikitin, D., et al. Retroelement-Linked Transcription Factor Binding Patterns Point to Quickly Developing Molecular Pathways in Human Evolution. 2019, 130. *Cells (ИФ 5.656)*

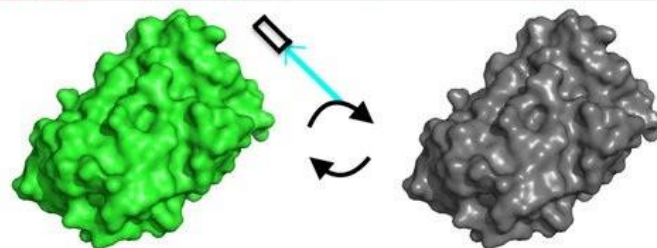
Nikitin D и др. (2019) Retroelement-Linked Transcription Factor Binding Patterns Point to Quickly Developing Molecular Pathways in Human Evolution. *Cells (ИФ 5.656)*

СОЗДАНЫ НОВЫЕ МЕТКИ И ПОДХОДЫ К НИЗКОТОКСИЧНОМУ ФЛУОРЕСЦЕНТНОМУ МЕЧЕНИЮ БЕЛКОВ В ЖИВЫХ КЛЕТКАХ



FAST + N871b

Новый красный флуороген



mAvicFP1

Спонтанное мигание

- ❑ Ультрафиолет, часто используемый во флуоресцентной микроскопии и наноскопии, чрезвычайно токсичен для клеток. Поэтому предпочтительно использование меток в зеленой и красной области спектра.
- ❑ Мы обнаружили способность флуоресцентного белка mAvicFP1 к спонтанному миганию под действием менее токсичного синего света, и применили это свойство для наноскопии и слежения за одиночными молекулами меченых белков в живых клетках.
- ❑ Флуороген-активирующие белки – это системы мечения нового поколения, состоящие из генетически кодируемого белка и обратимо связывающимся с ним флуорогена, добавляемого извне.
- ❑ Нами создан и применен в живых клетках новый красный флуороген N871b для белка-репортера FAST.

Gavrikov AS и др. (2019) Live-cell nanoscopy with spontaneous blinking of conventional green fluorescent proteins. *Biochem Biophys Res Commun* (ИФ 2.705)

Povarova NV и др. (2019) Red-shifted substrates for FAST fluorogen-activating protein based on the GFP-like chromophores. *Chemistry* (ИФ 5.16)





ОТДЕЛ МОЛЕКУЛЯРНОЙ НЕЙРОИММУННОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ (рук. член-корр. РАН В.И. Цетлин)

ИФ 52

- **Лаборатория молекулярной токсикологии**
Ю.Н. Уткин

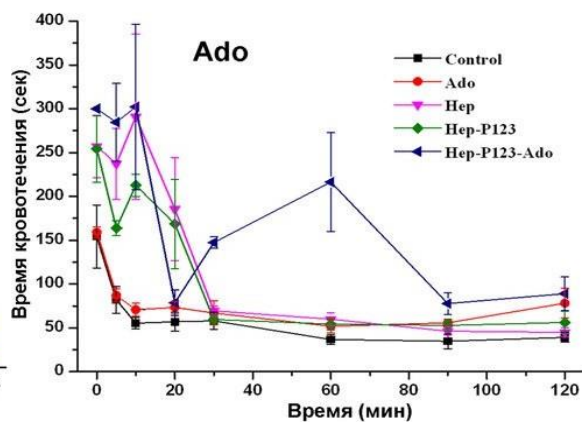
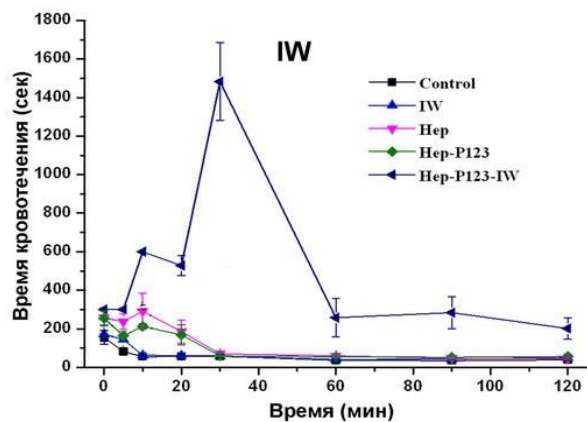
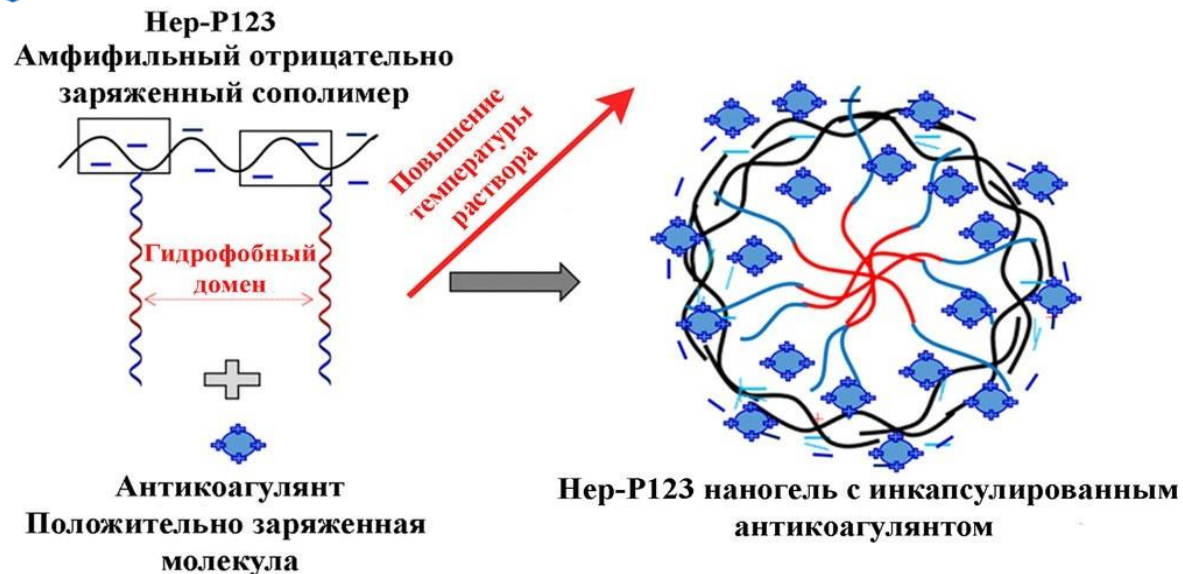
ИФ 58

- **Лаборатория лиганд-рецепторных взаимодействий**
И.Е. Кашеверов

ИФ 15,6

- **Лаборатория оксипинов**
В.В. Безуглов

ВКЛЮЧЕНИЕ В НАНОМАТЕРИАЛЫ УСИЛИВАЕТ БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КОМПОНЕНТОВ ЖИВОТНЫХ ЯДОВ



Увеличение биологической активности соединений, включенных в наноматериал

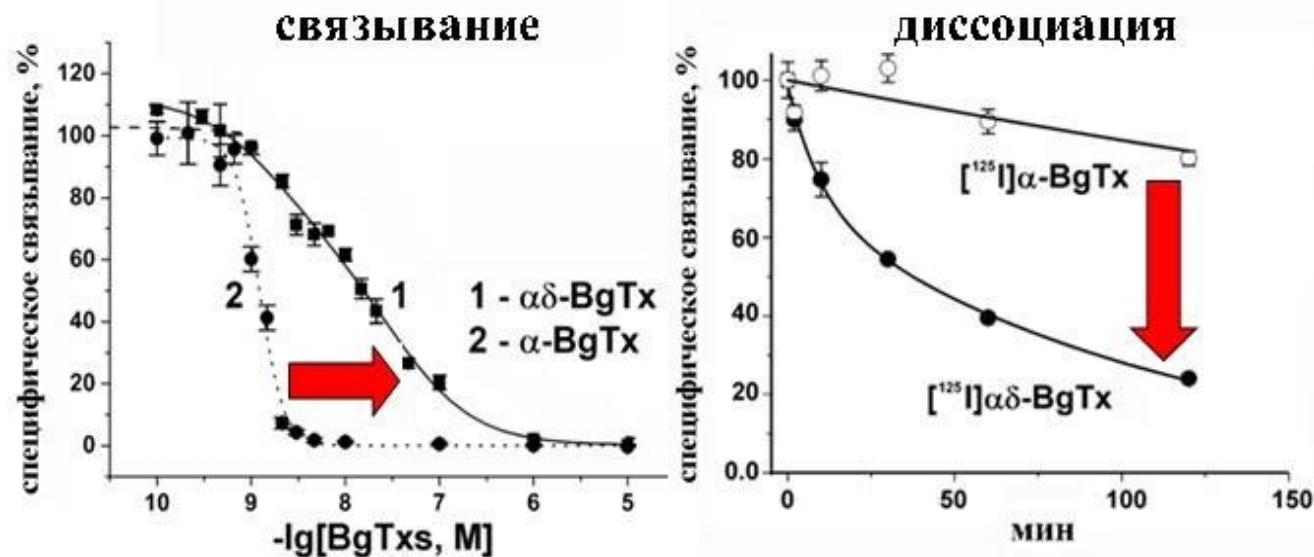
Ранее была продемонстрирована сильная антикоагулянтная активность дипептида IleTrp (IW) и аденозина (Ado), обнаруженных в яде скорпиона. Результаты дальнейшего исследования показали, что включение этих соединений в наноматериалы существенно усиливает их антикоагулянтную активность.

- ❑ Ado и IW были включены в термочувствительный наногель, состоящий из гепарина, к которому ковалентно присоединен полимер плюроник P123.
- ❑ Биологическую активность определяли путем измерения времени кровотечения из хвоста мыши *in vivo* и обнаружили, что инкапсуляция Ado и IW в наноматериал значительно усиливает их действие, что приводит к увеличению времени кровотечения.
- ❑ Таким образом, включение низкомолекулярных антикоагулянтов Ado и IW в наноматериалы можно рассматривать как способ повышения их биологической активности.

Nguyen TD и др. (2019) Nanoencapsulation Enhances Anticoagulant Activity of Adenosine and Dipeptide IleTrp. **Nanomaterials (Basel)** (ИФ 4.034)

Nguyen TD и др. (2019) Encapsulation of Neurotoxins, Blockers of Nicotinic Acetylcholine Receptors, in Nanomaterials Based on Sulfated Polysaccharides. **Dokl Biochem Biophys** (ИФ 0.612)

ПЕРВЫЙ ТРЕХПЕТЕЛЬНЫЙ ЗМЕИНЫЙ НЕЙРОТОКСИН, РАЗЛИЧАЮЩИЙ ПО АФФИННОСТИ И КИНЕТИКЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ДВА УЧАСТКА СВЯЗЫВАНИЯ В МЫШЕЧНОМ НИКОТИНОВОМ РЕЦЕПТОРЕ



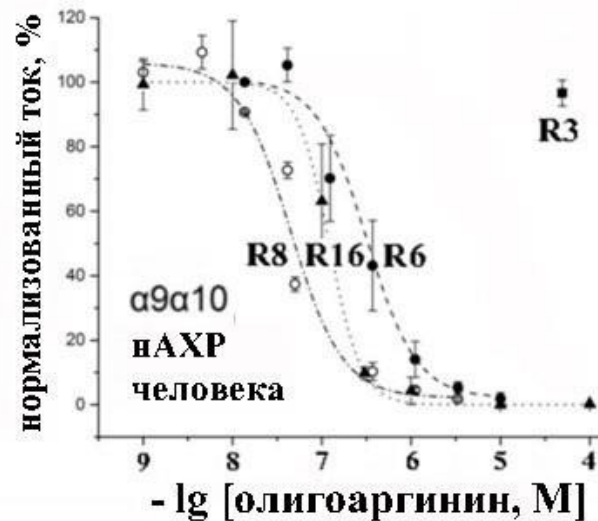
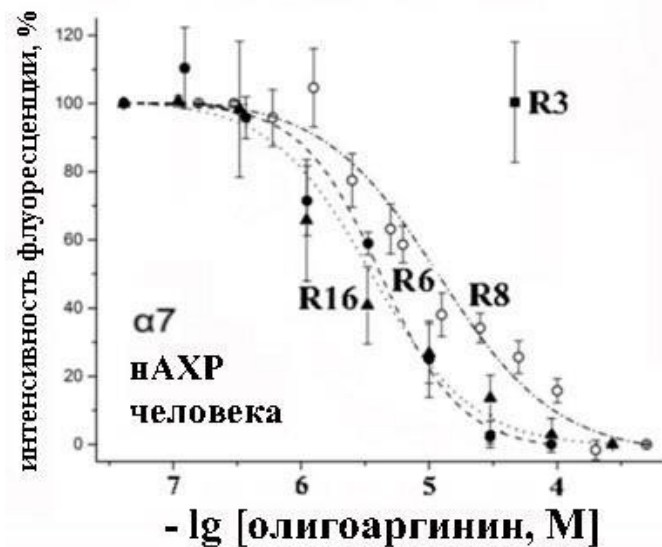
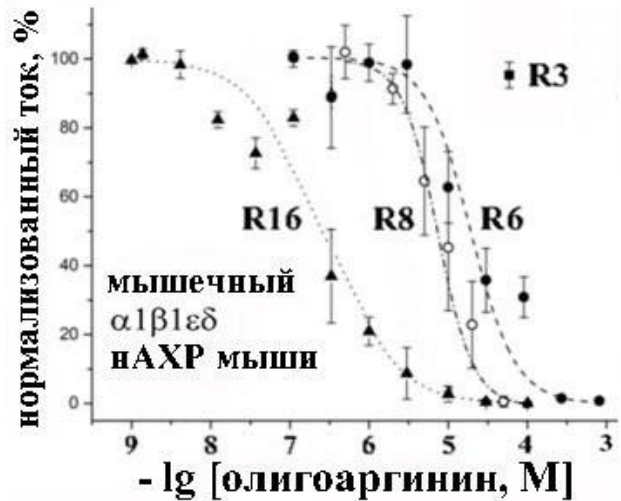
- Из яда крайта *Bungarus candidus* выделен и охарактеризован новый трехпетельный α -нейротоксин - $\alpha\delta$ -бунгаротоксин, отличающийся от хорошо известного блокатора мышечных, $\alpha 7$ и $\alpha 9\alpha 10$ нейрональных подтипов никотиновых рецепторов α -бунгаротоксина 11 заменами из 74 аминокислотных остатков.
- Новый токсин также эффективно взаимодействовал с $\alpha 7$ рецептором с наномолярным сродством, но при этом продемонстрировал уникальное для трехпетельных токсинов различие в сродстве к двум разным участкам связывания на мышечном рецепторе (аффинность к α - δ сайту выше чем к α - γ сайту в 20 раз).
- Кроме того, новый токсин показал быструю кинетику ухода с одного из участков в отличие от необратимого связывания α -бунгаротоксина.
- Таким образом, открыт новый инструмент исследования мышечных никотиновых рецепторов с уникальным набором свойств.

Utkin YN и др. (2019) Novel long-chain neurotoxins from distinguish the two binding sites in muscle-type nicotinic acetylcholine receptors.

Biochem J (ИФ 4.331)

ОЛИГОАРГИНИНЫ

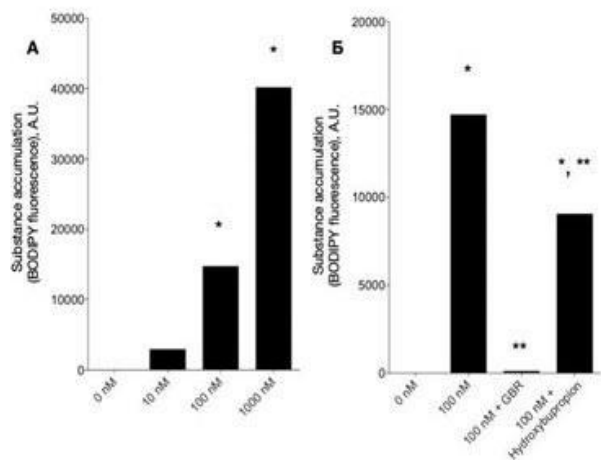
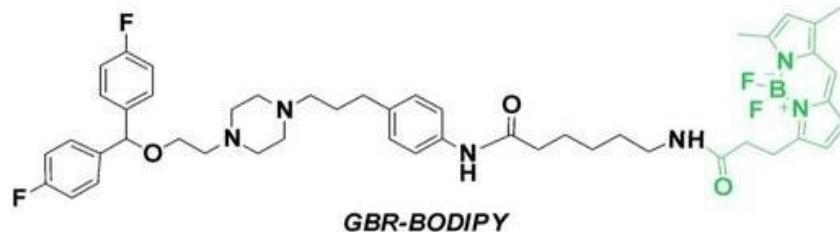
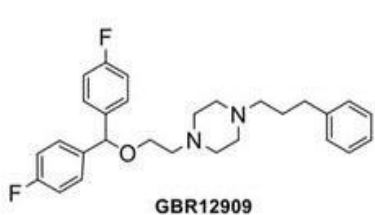
R3 RRR
 R6 RRRRRR
 R8 RRRRRRRR
 R16 RRRRRRRRRRRRRRRR



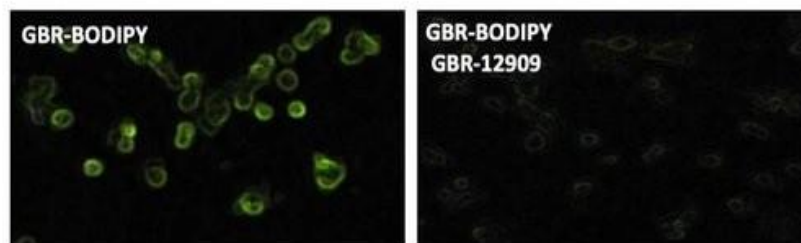
- На основании собственных и литературных данных, показывающих, что положительно заряженные аминокислотные остатки играют важную роль в активности α -конотоксинов, синтезирована серия пептидов, построенных исключительно из остатков аргинина (R) и показано, что олигоаргинины (R=6-18) являются ингибиторами различных подтипов никотиновых ацетилхолиновых рецепторов (nAChR), при этом R8 имеет выраженную селективность к нейрональным $\alpha 9/ \alpha 10$, а R16 имеет наибольшее сродство к $\alpha 7$ nAChR.
- Ингибирующая активность установлена и у ряда положительно заряженных полимеров, которые, наряду с олигоаргининами используются для внутриклеточной доставки потенциальных лекарственных соединений, что должно учитываться в качестве возможных положительных и отрицательных эффектов.

Lebedev D и др. (2019) Oligoarginine peptides, a new family of nAChR inhibitors. *Mol Pharmacol (ИФ 3.853)*

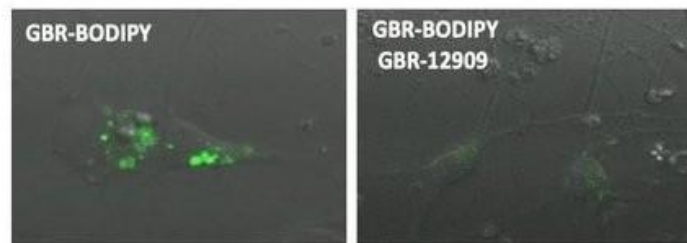
НАПРАВЛЕННАЯ ДОСТАВКА ЛЕКАРСТВ К ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИМ НЕЙРОНАМ С ПОМОЩЬЮ ФУНКЦИОналиЗИРОВАННОГО ИНГИБИТОРА ДОФАМИНОВОГО ТРАНСПОРТЁРА GBR12909: ПРОВЕРКА КОНЦЕПЦИИ



Накопление GBR-BODIPY в клетках PC12 в отсутствии ингибиторов (А) и в присутствии 5 μM ингибиторов транспортера обратного захвата дофамина (Б). * - статистически значимые отличия от контроля (0 nM), ** - статистически значимые отличия от эффекта 100 nM GBR-BODIPY без ингибиторов, ANOVA Tukey's post-test. Измерение интенсивности флуоресценции под микроскопом, среднее \pm стандартная ошибка.



Транспорт 10 μM GBR-BODIPY в клетки феохромоцитомы PC12 крысы. Время инкубации 10 мин.



Транспорт GBR-BODIPY в DA-нейроны. Время инкубации 10 мин.

Создана конструкция, способная избирательно доставлять активные молекулы к дофаминергическим нейронам. Актуальность создания подобных лекарственных препаратов объясняется необходимостью защитить дофаминергические нейроны, которые прогрессивно погибают при болезни Паркинсона. В качестве адресной части создаваемой конструкции прототипа лекарственного препарата выбран ингибитор дофаминавого транспортера (DAT) GBR12909, который отличается от других известных ингибиторов высокими селективностью и аффинностью к DAT. Для проверки применимости данной конструкции для направленной доставки фармакологически активных веществ в дофаминергические нейроны синтезирован флуоресцентный аналог функционализированного GBR12909 с BODIPY-FL-флуорофором.

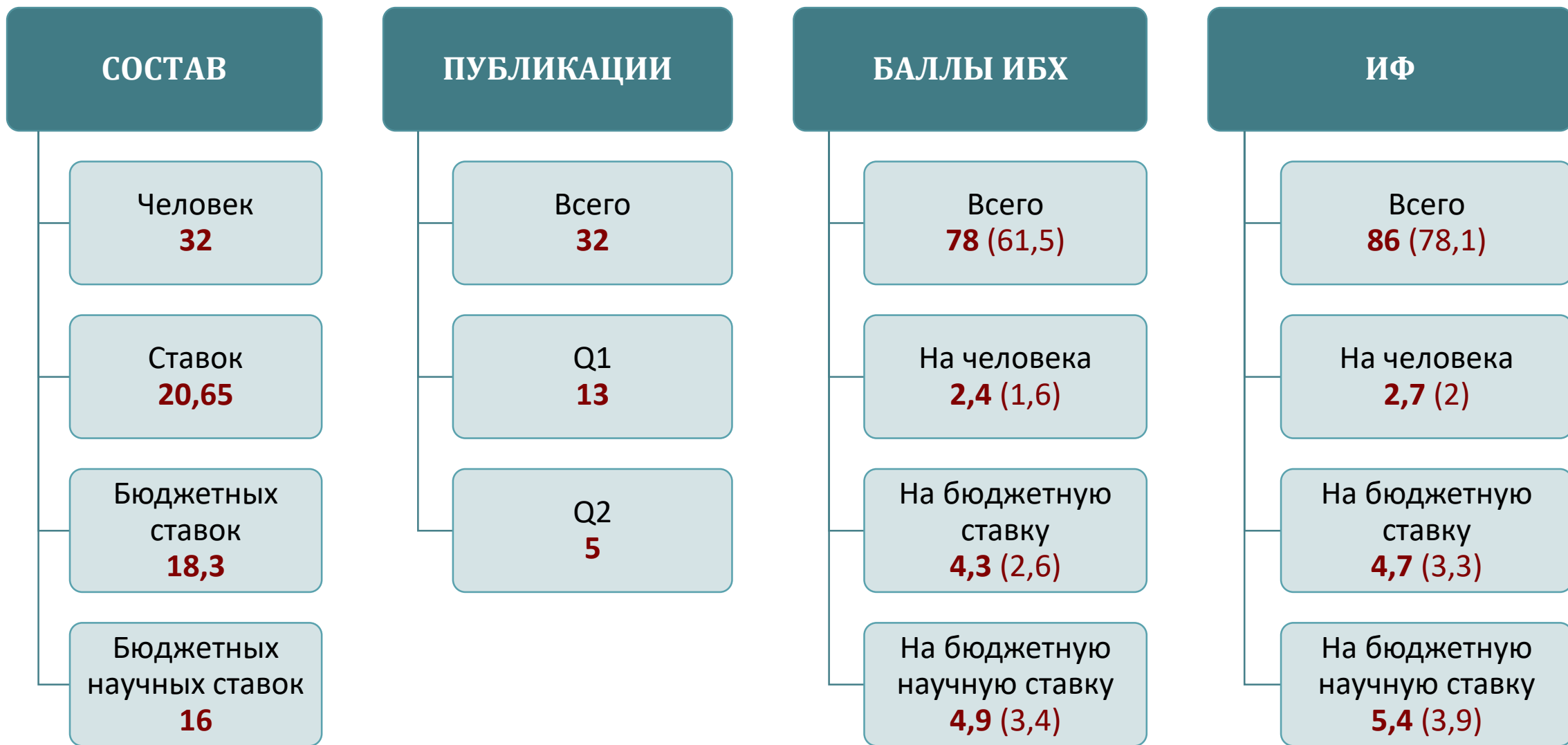
Экспериментами на клетках, содержащих активный DAT, показано, что флуоресцентный аналог проникает в клетки феохромоцитомы PC12 и дофаминергические нейроны мозга крысы посредством селективного транспорта с помощью DAT.

Таким образом, установлено, что флуоресцентный аналог GBR12909 является лигандом дофаминавого транспортера и система DAT может быть использована для направленной доставки активных соединений к дофаминергическим нейронам.

Лаврова А.В., Грецкая Н.М., Акимов М.Г., Безуглов В.В. Новый флуоресцентный аналог ингибитора обратного захвата дофамина GBR12909 // *Биоорганическая химия*. — 2019. — Т. 45. — № 5. — С. 545–554.



ОТДЕЛ МОЛЕКУЛЯРНОЙ НЕЙРОИММУННОЙ СИГНАЛИЗАЦИИ (рук. член-корр. РАН В.И. Цетлин)





ОТДЕЛ БИОИНЖЕНЕРИИ (рук. академик М.П. Кирпичников)

ИФ 31,4

- **Лаборатория инженерии белка**
Д.А. Долгих

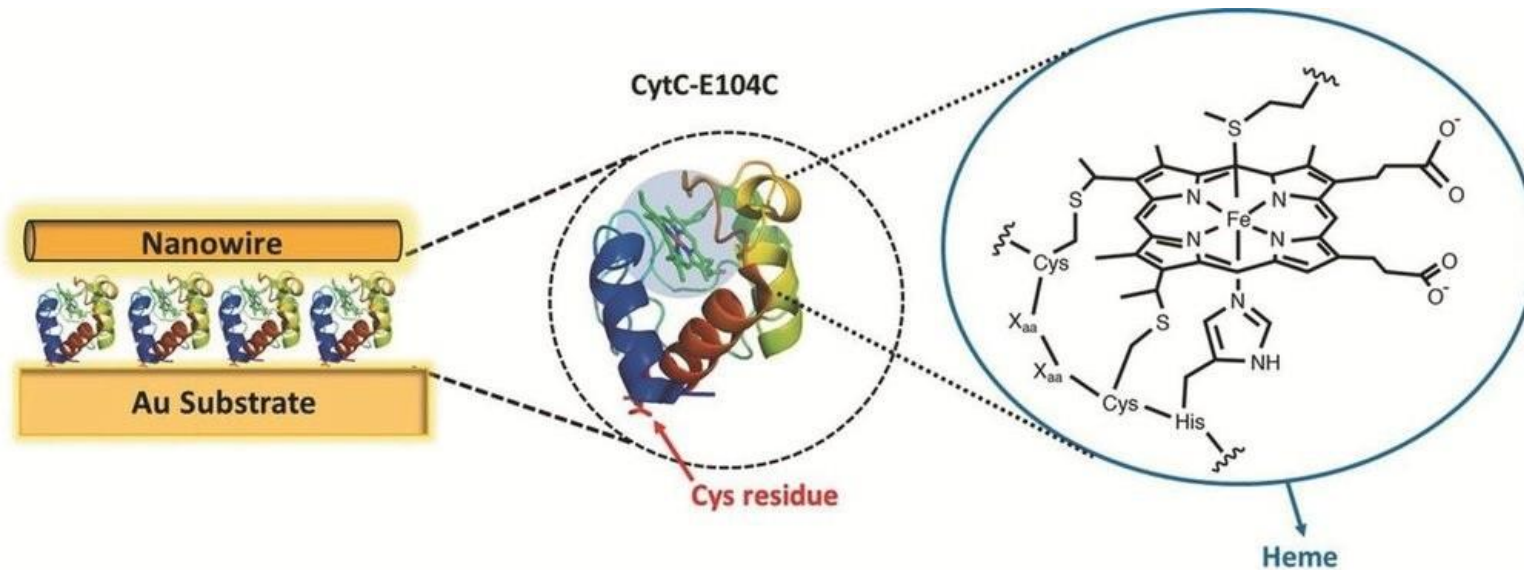
ИФ 15

- **Лаборатория биоинженерии нейромодуляторов и нейрорецепторов**
Е.Н. Люкманова

ИФ 13

- **Лаборатория нанобиоинженерии**
О.В. Некрасова

МУТАНТНЫЕ ВАРИАНТЫ ЦИТОХРОМА С, ИММОБИЛИЗОВАННЫЕ В ВИДЕ МОНОСЛОЯ НА ЗОЛОТОЙ ПОДЛОЖКЕ, МОГУТ СТАТЬ ОСНОВОЙ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРИНЦИПИАЛЬНО НОВЫХ БИОЭЛЕКТРОННЫХ УСТРОЙСТВ



В лаборатории инженерии белка совместно с коллегами из института Вейцмана (Израиль) и Мадридского университета (Испания) получены и исследованы мутантные варианты цитохрома С (CytC), которые были иммобилизованы в виде монослоя на золотой подложке за счет тиольной связи с Au. Показано, что механизм переноса тока через соединение Au-CytC-Au можно переключать, изменяя напряжение на соединении, при этом существует два различных режима переноса. При напряжении <0.5 В вольт-амперные характеристики переходов Au-CytC-Au соответствуют нерезонансному туннелированию в качестве преобладающего транспортного механизма. При бóльших же напряжениях наблюдается почти 10-кратное увеличение проводимости с высоким пиком интенсивности, которое интерпретируется как прямое доказательство резонансного туннелирования, опосредованного дискретными уровнями энергии, связанными с гемопорфирином CytC.

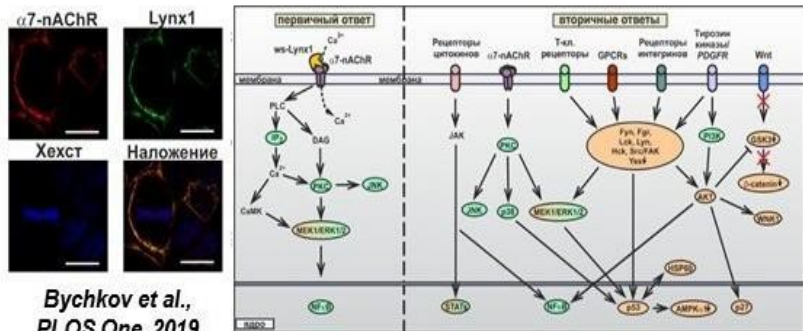
Электрические соединения, сконструированные на основе подобных электрон-переносящих белковых молекул, могут быть шагом к созданию принципиально новых биоэлектронных устройств.

Cahen D и др. (2019) Solid-state Protein-based Reversible Biased-induced Tunneling Current Switch. *Angew Chem Int Ed Engl* (ИФ 12.257)

Kryukova M и др (2019) Thermal Inactivation of a Cold-Active Esterase PMGL3 Isolated from the Permafrost Metagenomic Library. *Biomolecules* (ИФ 4,694)

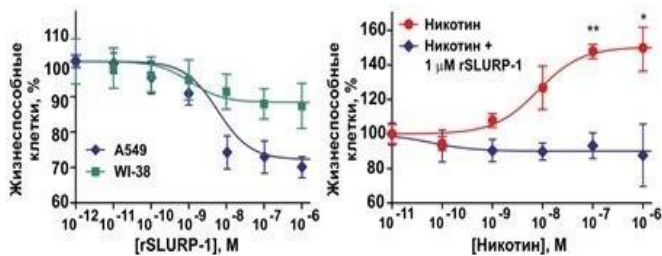
ТРЕХПЕТЕЛЬНЫЕ БЕЛКИ ЧЕЛОВЕКА ИНГИБИРУЮТ РОСТ КЛЕТОК КАРЦИНОМ

Lynx1 тормозит рост раковых клеток легкого, активируя p53 фактор и вызывая апоптоз



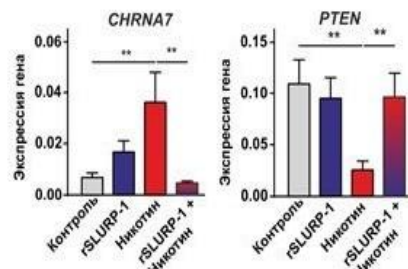
Buchkov et al., PLOS One, 2019

SLURP-1 тормозит никотин-индуцированный рост раковых клеток легкого



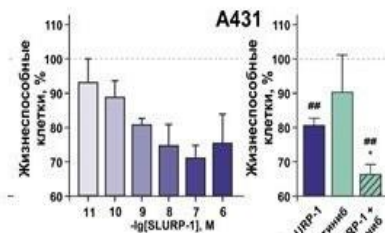
Shulepko et al., Int. Immunopharmacol., submitted

SLURP-1 отменяет вызванные никотином изменения в экспрессии α7-nAChR и PTEN



Shulepko et al., Int. Immunopharmacol., submitted

SLURP-1 ингибирует рост опухолевых сфероидов



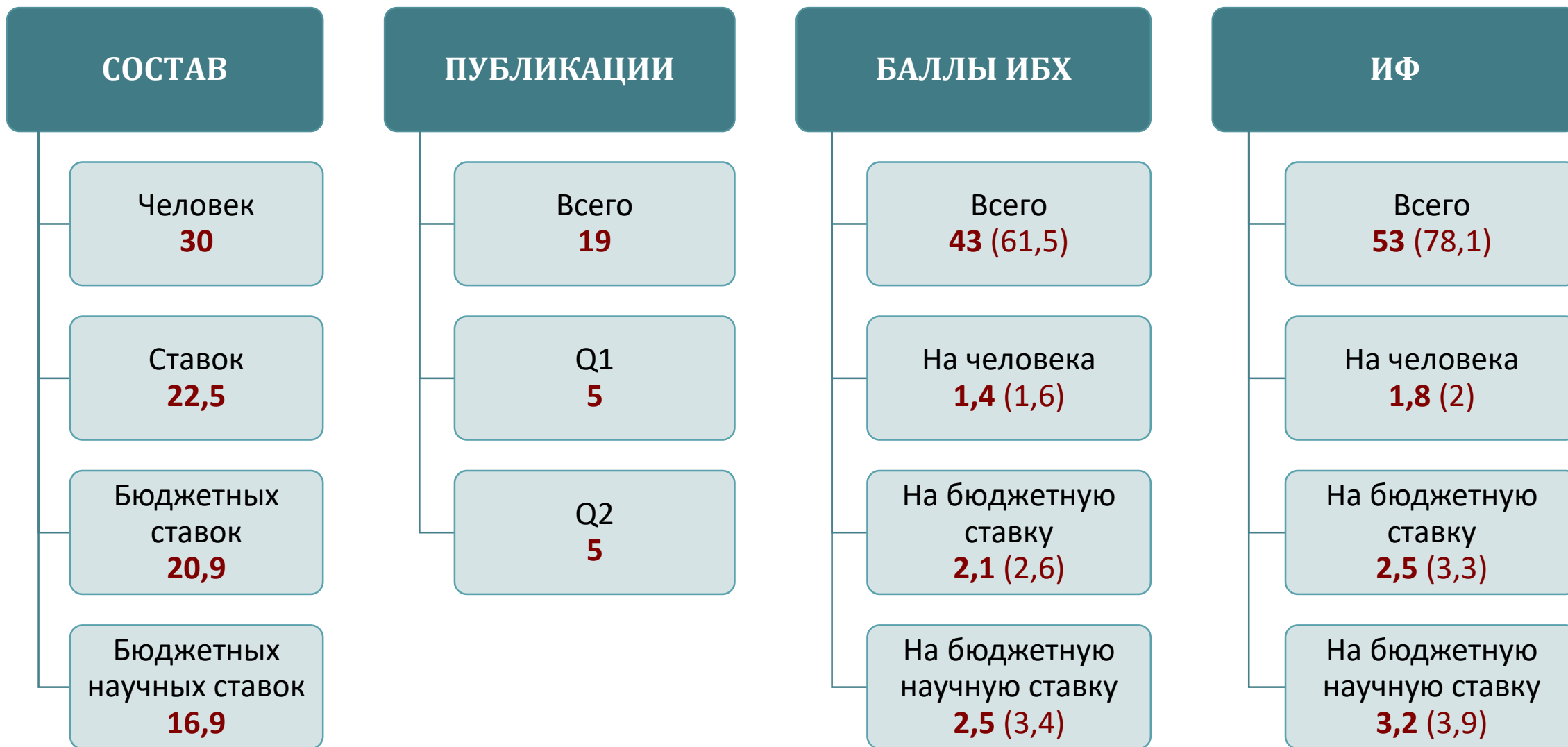
Бычков и др., ДАН, 2019

Никотиновые рецепторы ацетилхолина (nAChR) играют важную роль в физиологии клеток эпителия, а их активация способствует развитию карцином. Природные модуляторы никотиновых рецепторов ацетилхолина могут стать перспективными прототипами новых противоопухолевых средств.

- Показано, что рекомбинантные препараты трехпетельных белков человека ws-Lynx1 и rSLURP-1 ингибируют рост клеток карциномы легкого и меланомы. Препарат ws-Lynx1 в клетках A549 стимулирует антипролиферативные и проапоптотические сигнальные каскады, связанные с активацией α7-nAChR.
- Препарат rSLURP-1 тормозит никотин-индуцированный рост клеток карциномы легкого, а также отменяет вызванное никотином увеличение экспрессии α7-nAChR и снижение экспрессии гена-онкосупрессора PTEN.
- Кроме того, rSLURP-1 тормозит рост мультиклеточных сфероидов из клеток различных карцином.
- Совместное применение rSLURP-1 с другими противоопухолевыми препаратами (гефитиниб, бортезомиб, доксорубицин) приводит к полной остановке роста сфероидов.
- Таким образом, препараты ws-Lynx1 и rSLURP-1 представляют собой перспективные прототипы для разработки новых препаратов для лечения онкологических заболеваний.

Buchkov M и др. (2019) Water-soluble variant of human Lynx1 induces cell cycle arrest and apoptosis in lung cancer cells via modulation of α7 nicotinic acetylcholine receptors. *PLoS One* (ИФ 2.776)

Lyukmanova EN и др. (2018) Human secreted proteins SLURP-1 and SLURP-2 control the growth of epithelial cancer cells via interactions with nicotinic acetylcholine receptors. *Br J Pharmacol* (ИФ 6.583)





ОТДЕЛ МОЛЕКУЛЯРНОЙ НЕЙРОБИОЛОГИИ (рук. член-корр. РАН А.В. Семьянов)

ИФ 41,9

- **Лаборатория нейрорецепторов и нейрорегуляторов**
С.А. Козлов

ИФ 13,1

- **Лаборатория внесинаптической передачи**
А.В. Семьянов

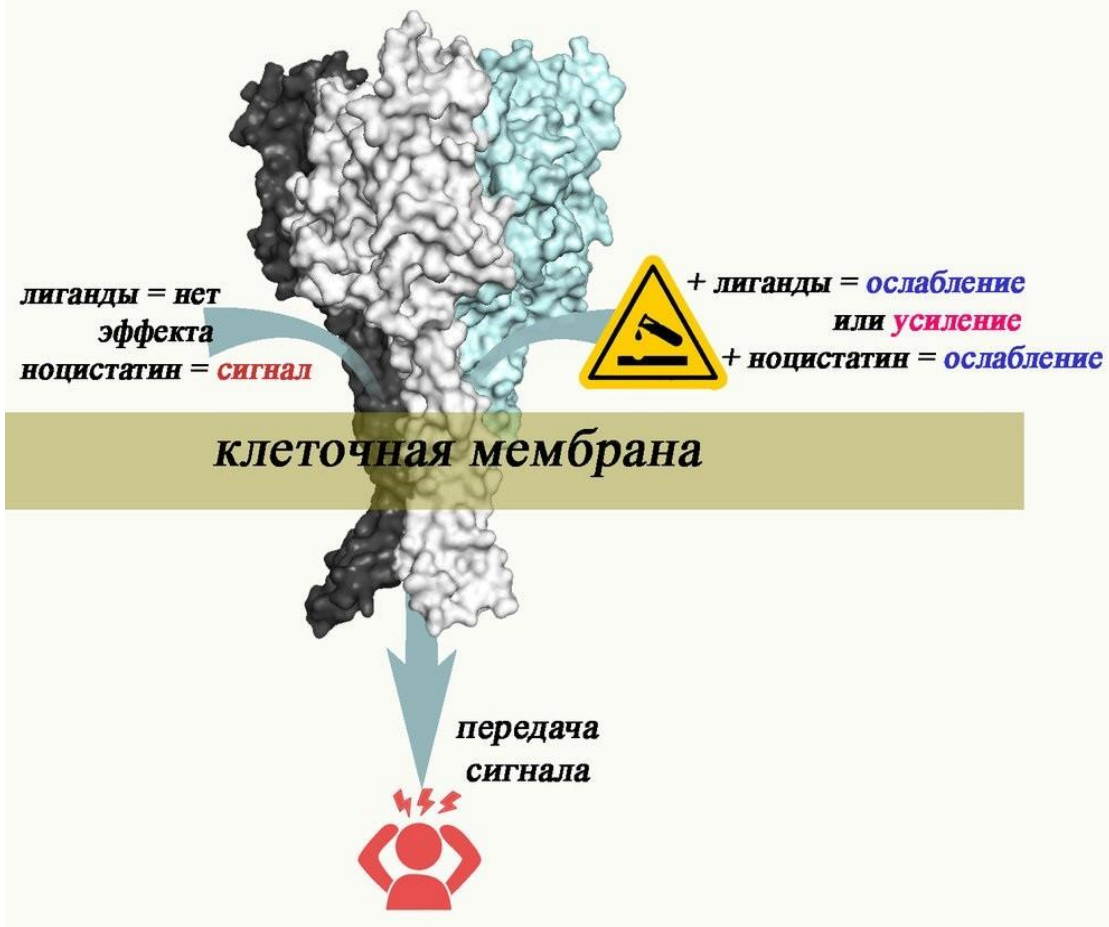
ИФ 3,9

- **Лаборатория синтетических вакцин**
О.М. Вольпина

ИФ 21

- **Лаборатория молекулярных инструментов для нейробиологии**
А.А. Василевский

ВПЕРВЫЕ ОБНАРУЖЕНА МОЛЕКУЛЯРНАЯ МИШЕНЬ ДЕЙСТВИЯ ОРФАННОГО НЕЙРОПЕПТИДА МЛЕКОПИТАЮЩИХ – НОЦИСТАТИНА, СВЯЗАННАЯ С ПРОЦЕССАМИ БОЛЕВОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ



Ноцистатин - эндогенный нейропептид, вырабатываемый нейронами в центральной и периферической нервной системе - до настоящего времени относился к классу сиротских белков, для которых не была явно определена молекулярная мишень действия.

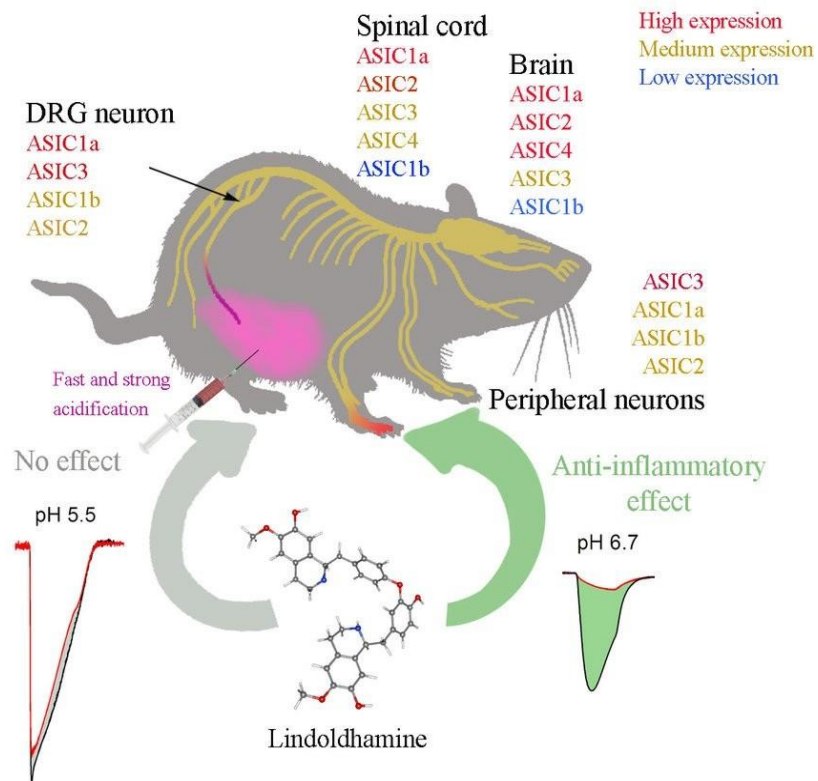
В лаборатории нейрорецепторов и нейрорегуляторов ИБХ РАН в экспериментах *in vitro* было показано, что ноцистатин возбуждает мембранные ионные каналы ASIC в нейронах центральной и периферической нервной системы, при этом возникающий ионный ток сопоставим по основным параметрам с тем, который возникает при закислении внеклеточной среды. Пептид способен активировать все подтипы кислото-чувствительных каналов, и его действие является концентрационно зависимым. Антагонисты ASIC ингибируют вызываемый аппликацией ноцистатина ток. Более того, активированные ноцистатином каналы десенситизируются и теряют способность в дальнейшем реагировать на кислоту, поэтому в низкой дозе пептид ингибирует (подавляет), а в высокой – стимулирует работу каналов ASIC. Этим объясняется его двойственное действие на болевую чувствительность, где он выступает и как генератор болевых сигналов и как тормозящий агент одновременно. Ни один известный ранее лиганд ионных каналов ASIC не имеет подобных свойств.

Таким образом, обнаружен новый лиганд ионных каналов ASIC, физиологическая значимость которого в жизнедеятельности животных и человека ранее никак не ассоциировалась с регулированием работы этого рецептора. Поскольку каналы ASIC, прежде всего, участвуют в возникновении чувства боли, это открытие может послужить для разработки принципиально новых обезболивающих и противовоспалительных лекарств. Помимо этого, каналы ASIC участвуют в процессах, связанных с обучением, памятью и нейропластичностью, что позволяет предположить возможную вовлеченность ноцистатина в процессы регулирования высшей нервной деятельности и нейродегенерации. В этом аспекте изучение таких процессов с измерением и регулированием уровня эндогенного нейропептида – перспективная задача фундаментальных исследований.

Osmakov DI и др. (2019) Endogenous Neuropeptide Nocistatin Is a Direct Agonist of Acid-Sensing Ion Channels (ASIC1, ASIC2 and ASIC3). *Biomolecules* (ИФ 4.694)

ИЗУЧЕНО ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ДВУХ БИСБЕНЗИЛИЗОХИНОЛИНОВЫХ АЛКАЛОИДОВ – ЛИГАНДОВ КАНАЛОВ ASIC1a

Линдольдхамин эффективен в болевых моделях на животных, где развивается слабое закисление внеклеточной среды (например при воспалении).



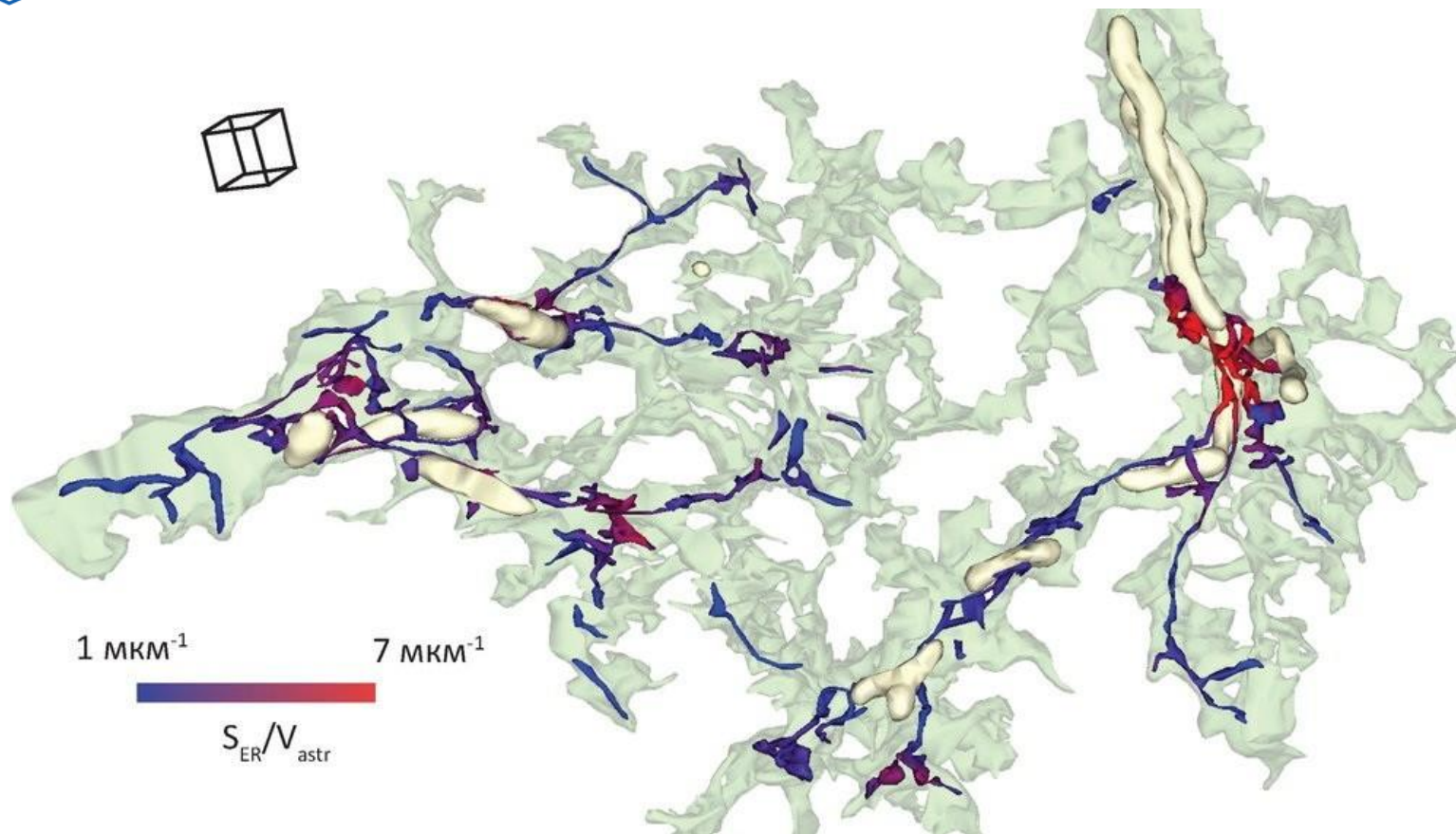
Подтип ASIC1a является самым эффективным кислото-чувствительным каналом в клеточной мембране, и он играет важную роль в возбуждении нейронов центральной нервной системе. Именно лиганды к этому подтипу каналов ASIC представляют наибольший интерес для разработки средств борьбы с болью, инсультами, и с нейродегенеративными заболеваниями.

- ❑ В экспериментах *in vitro* на гетерологически экспрессированных каналах ASIC1a методом двухэлектродного фиксирования потенциала изучено действие двух бисбензилизохинолиновых алкалоидов растений.
- ❑ Алкалоид линдольдхамин, выделенный из листьев лавра, значительно ингибировал ответ канала ASIC1a на физиологически значимые слабые стимулы pH 6,5–6,85 с IC50 в диапазоне 150–9 мкМ, но вызывал лишь частичный ингибирующий ответ при подаче более кислых раздражители. У мышей внутривенное введение линдольдхамина в дозе 1 мг/кг вызывало обезболивающий эффект в тесте термической гипералгезии при воспалении, но не в тесте укусы корчи, где проводят внутрибрюшинную инъекцию уксусной кислоты. Таким образом, было показана не просто перспективность использования растительных алкалоидов для облегчения боли, но и косвенно подтверждена вовлеченность каналов ASIC1a периферической нервной системы в генерацию болевого ответа на слабое закисление.
- ❑ Структурный аналог дауризолин, в отличие от линдольдхамина, не ингибировал активацию канала ASIC1a, но вызывал необычный ответ на активацию канала протонами. Необычность заключается в проявлении второй компоненты тока, которая проявляется с задержкой в 2.5 секунды после начала развития первой быстрой компоненты тока и так же быстро десенситизируется. Вторые компоненты тока характерны для каналов ASIC2 и ASIC3, но эти компоненты постоянные, и длятся все время до полной отмены кислотного стимула.
- ❑ Найденный второй компонент тока у подтипа ASIC1a позволяет утверждать, что все типы кислото-чувствительных каналов имеют двойной механизм открывания и десенситизации тока, который интересно будет определить в дальнейших экспериментах.

Osmakov DI и др. (2019) Alkaloid Lindoldhamine Inhibits Acid-Sensing Ion Channel 1a and Reveals Anti-Inflammatory Properties. *Toxins (Basel)* (ИФ 3.895)

Osmakov DI и др. (2019) Multiple Modulation of Acid-Sensing Ion Channel 1a by the Alkaloid Daurisoline. *Biomolecules* (ИФ 4.694)

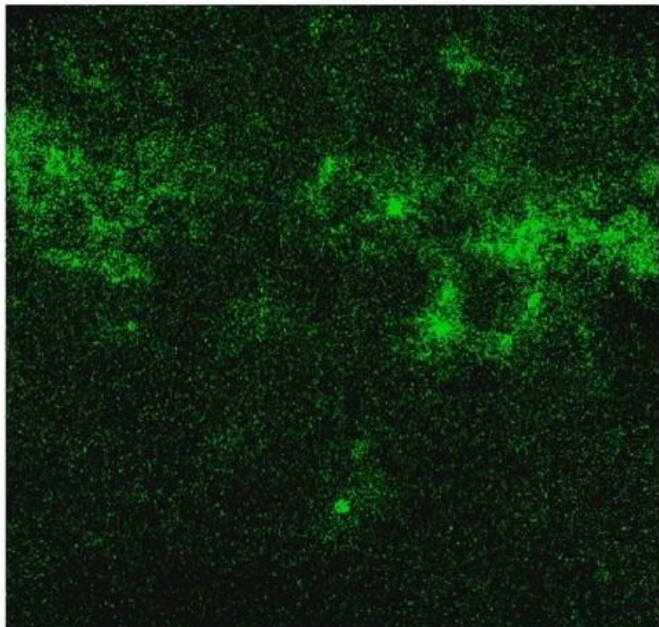
Трёхмерная реконструкция астроцитарных отростков



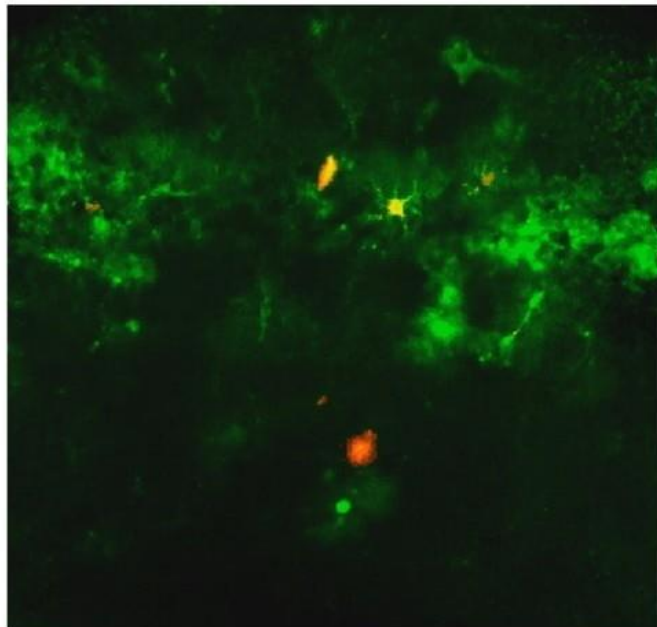
- Используя электронную микроскопию серийных срезов, мы получили трёхмерную реконструкцию астроцитарных отростков. Астроцитарные отростки состояли из веточек, стержнеобразных структур, содержащих органеллы, а также листочков, тонких перисинаптических отростков без органелл, прикреплённых к веточкам.
- Мы идентифицировали листочки разных размеров и форм и показали, что более крупные листочки частично теряют свою плоскую структуру, что может быть необходимо для приёма цистерн эндоплазматического ретикулума и дальнейшего преобразования листочков в расширения веточек.
- Дополнительно было показано, что количество глутаматергических синапсов, контактирующих с листочками, определялось только размерами самих листочков.

Gavrilov N и др. (2018) Astrocytic coverage of dendritic spines, dendritic shafts, and axonal boutons in hippocampal neuropil. *Front Cell Neurosci* (ИФ 3.9)

оригинальное



обработанное



Астроциты кодируют информацию о состоянии окружающей нервной ткани в виде пространственно-временных паттернов Ca^{2+} активности. В свою очередь, Ca^{2+} события в астроцитах через ряд механизмов влияют на синаптическую пластичность, высвобождение глиопередатчиков и локальный кровоток. Использование генетически кодируемых Ca^{2+} индикаторов позволило визуализировать астроцитарную Ca^{2+} активность на уровнях от тонких периферических отростков до целых клеточных доменов и сетей клеток.

Интерпретация экспериментальных результатов требует использования адекватных методов обработки данных, включая стабилизацию изображений, подавление шума, разделение сигнала на быстрые и медленные компоненты, сегментацию отдельных событий сигнализации и установление возможных закономерностей в появлении этих событий. Мы показали, что спонтанная Ca^{2+} активность в отдельных астроцитах имеет вид локализованных событий. Эти события (оттенки жёлтого на обработанном рисунке) возникали преимущественно на периферии пространственных доменов астроцита и характеризовались распределениями с тяжёлым хвостом по размерам и длительностям.

Локальные кинетические параметры нарастания и затухания флуоресценции были привязаны к морфологии клетки; в зависимости от степени вовлеченности крупных отростков в наблюдаемые события, присутствовали градации средней амплитуды и пиковой скорости изменения флуоресценции. На уровне астроцитарной сети наблюдались флуктуации суммарной Ca^{2+} активности, наибольший вклад в пики активности вносили одиночные события, охватывающие целиком пространственный домен астроцита.

Разработанные методические подходы и полученные данные могут пролить свет на принципы формирования пространственно-временных паттернов астроцитарной Ca^{2+} активности и их вовлеченность в когнитивные процессы.

Браже AP и др. (2019) Patterns of Calcium Dynamics in Brain Astrocytic Networks. *Russ Fiziol Zh Im I M Sechenova (ИФ 0)*

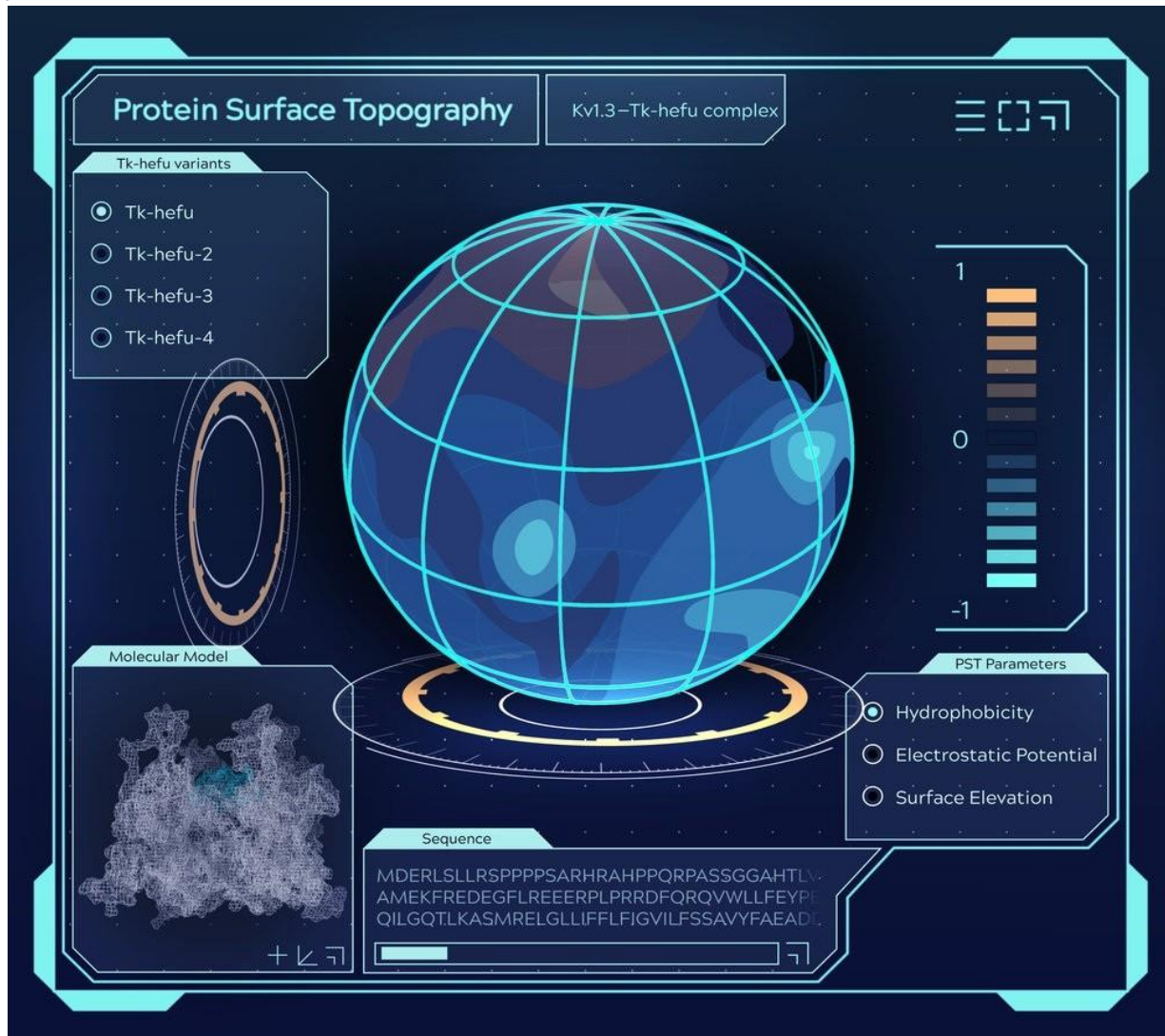


Ранее нами была создана исчерпывающая база данных токсинов скорпионов, действующих на калиевые каналы, получившая название Kalium. Теперь она была расширена и включает вообще все известные лиганды калиевых каналов пептидной природы. Вместе с ресурсом [Guide to PHARMACOLOGY](#), содержащим информацию о низкомолекулярных лигандах, база данных Kalium 2.0 предоставляет исследователям всеобъемлющую информацию об этой важнейшей группе соединений.

По традиции, наша инициатива получила широкое одобрение сообщества, в качестве экспертов Kalium 2.0 выступили ведущие мировые специалисты в области лигандов ионных каналов. Подробнее читай в пресс-релизе на [сайте РНФ](#). База данных Kalium 2.0 доступна по [ссылке](#).

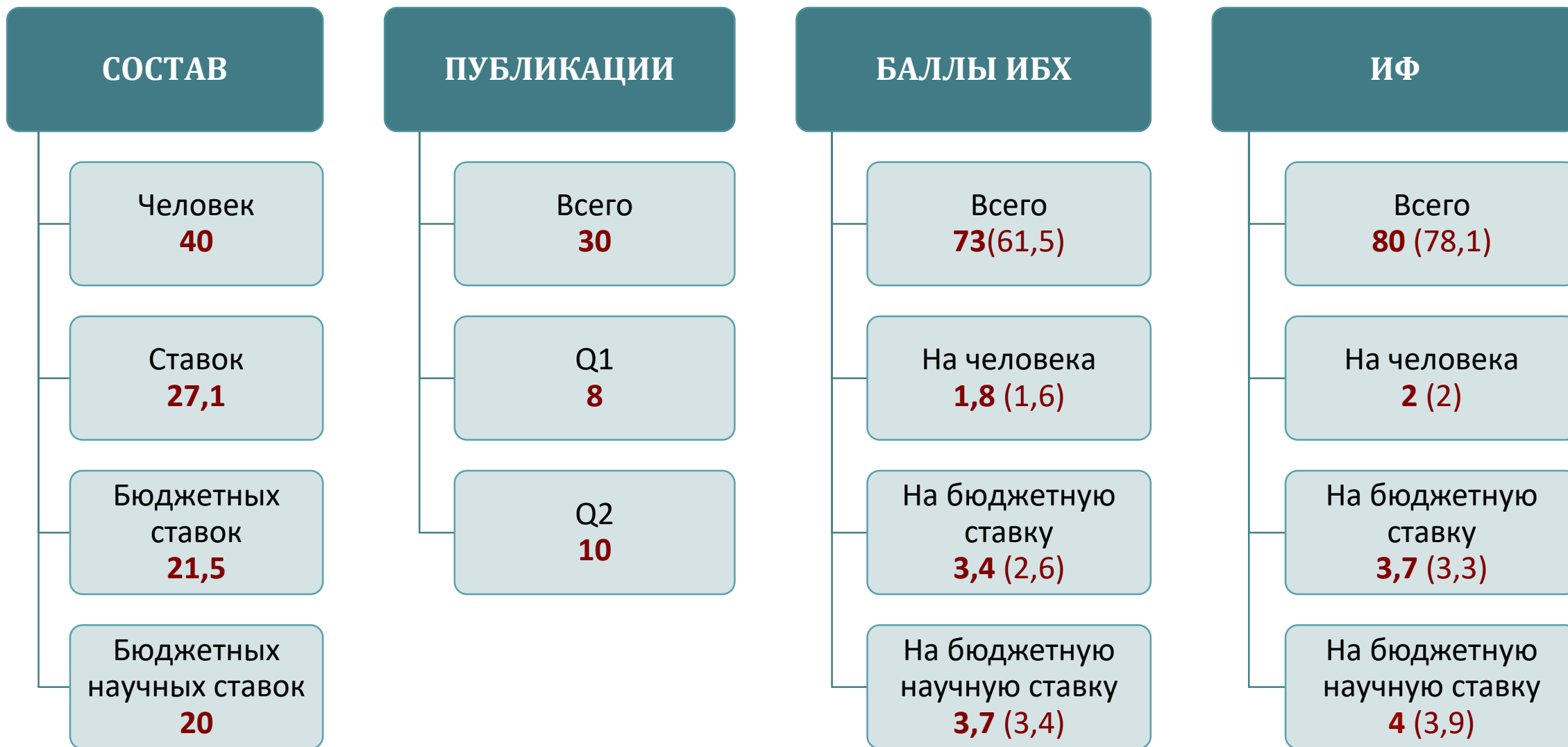
Tabakmakher VM и др. (2019) Kalium 2.0, a comprehensive database of polypeptide ligands of potassium channels. *Sci Data* (ИФ 5.929)

МЕТОД БЕЛКОВОЙ ТОПОГРАФИИ ПОЗВОЛИЛ УЛУЧШИТЬ БЛОКАТОР КАЛИЕВОГО КАНАЛА



Ранее для проектирования пептидов с заданной функцией мы предложили использовать удобный структурный каркас, а именно α -гарпининовую укладку, характерную для токсинов из яда скорпионов и защитных пептидов растений. Теперь использование разработанного нами [метода белковой топографии](#) позволило существенно улучшить свойства искусственного α -гарпинина, блокирующего калиевые каналы Kv1.3, важную фармакологическую мишень. Совместное использование двух подходов - «скаффолд-инженерии» и белковой топографии - позволяет получать оптимизированные лиганды ионных каналов.

Berkut AA и др. (2019) Protein Surface Topography as a tool to enhance the selective activity of a potassium channel blocker. *J Biol Chem* (ИФ 4.106)





ОТДЕЛ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ РАСТЕНИЙ (рук. член-корр. РАН С.К. Завриев)

ИФ 7,6

- **Лаборатория молекулярной диагностики**
С.К. Завриев

ИФ 57,4

- **Лаборатория молекулярной биоинженерии**
К.А. Мирошников

ИФ 45,1

- **Лаборатория функциональной геномики и протеомики растений**
М.Э. Тальянский

ИФ 18,9

- **Лаборатория экспрессионных систем и модификации генома растений**
С.В. Долгов

ИФ 8,6

- **Лаборатория биотехнологии растений**
Т.В. Шевчук

ИФ 12,5

- **Группа лесной биотехнологии**
К.А. Шестибратов

ИФ 24,3

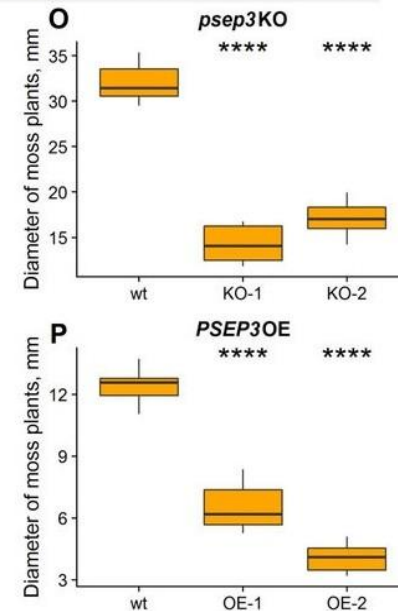
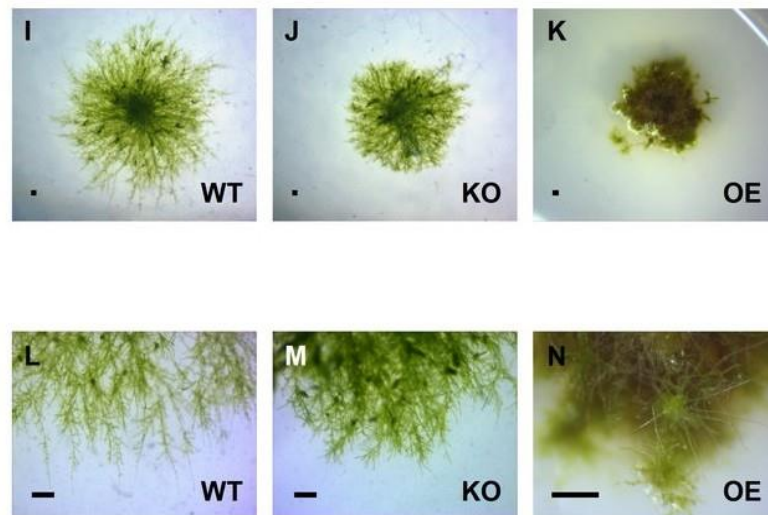
- **Лаборатория молекулярных основ стрессоустойчивости растений**
М.Э. Тальянский

КОРОТКИЕ РАМКИ СЧИТЫВАНИЯ КОДИРУЮТ РЕГУЛЯТОРНЫЕ МИКРОБЕЛКИ У РАСТЕНИЙ

В организмах живых существ есть небольшие участки ДНК размером до 300 пар нуклеотидов, которые могут потенциально кодировать маленькие белки. Короткие рамки считывания найдены в ДНК всех организмов, однако их обычно отбрасывают при биоинформатическом анализе генома. Это приводит к тому, что кодирующий потенциал геномов остается неизученным, а биологическая роль продуктов считывания этих коротких рамок зачастую недооценивается. Мы обнаружили приблизительно 70 тысяч маленьких рамок считывания на различных типах молекул РНК модельного растения — мох *Physcomitrella patens*. Более 5000 из них оказались консервативными, то есть мало изменявшимися в процессе эволюции у всех организмов, поэтому они встречались не только у мха.

- ❑ Для поиска транслирующихся коротких рамок был использован масс-спектрометрический анализ.
- ❑ После жесткой фильтрации, для дальнейшего анализа использовали 46 транслирующихся рамок, находящихся на разных типах РНК, включая длинные некодирующие РНК.
- ❑ По некоторым коротким рамкам были получены мутантные линии со сверхэкспрессией или нокаутом пептидов.
- ❑ Оказалось, что выбранные для проверки микробелки участвуют в регуляции развития и роста мха.

A peptide PSEP3
MVHQDNSGSGLRSFNHPNPPNRRPPSNPPVVRNPSSGRTPHYPYPPPPHNYNGYPN (57 aa)

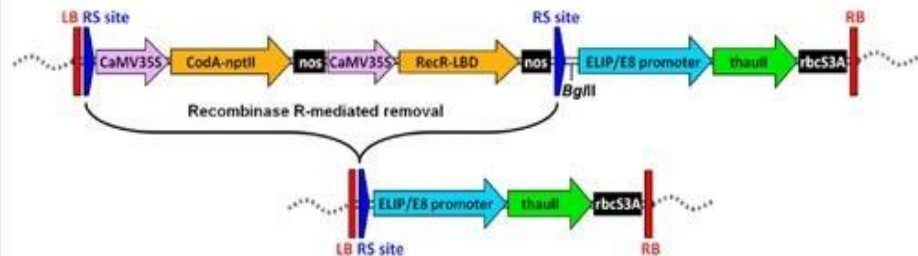


- ❑ При «выключении» найденных генов, например отвечающих за синтез пептидов *psep3* и *psep25*, наблюдалось снижение роста растения, а их избыточная работа приводила к разнообразным внешним эффектам или появлению новых гаметофоров — частей, несущих половые органы. В настоящее время научный интерес к теме начал стремительно расти, особенно из-за того, что причина некоторых заболеваний человека лежит в нарушении альтернативных рамок считывания.

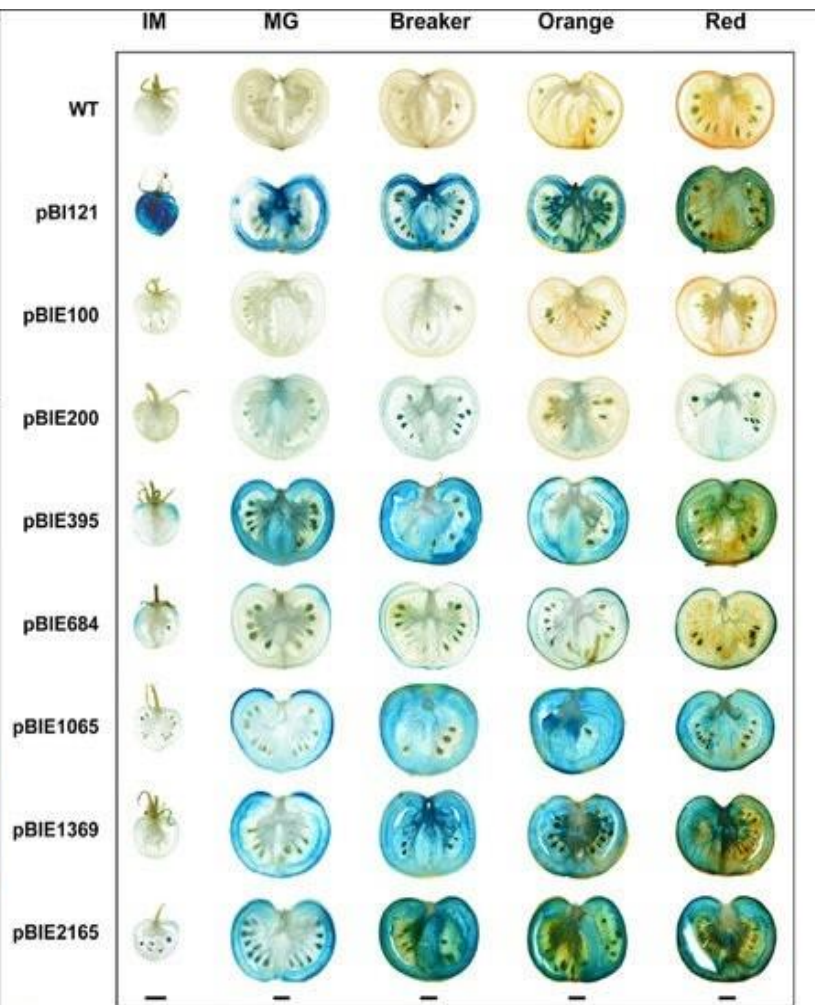
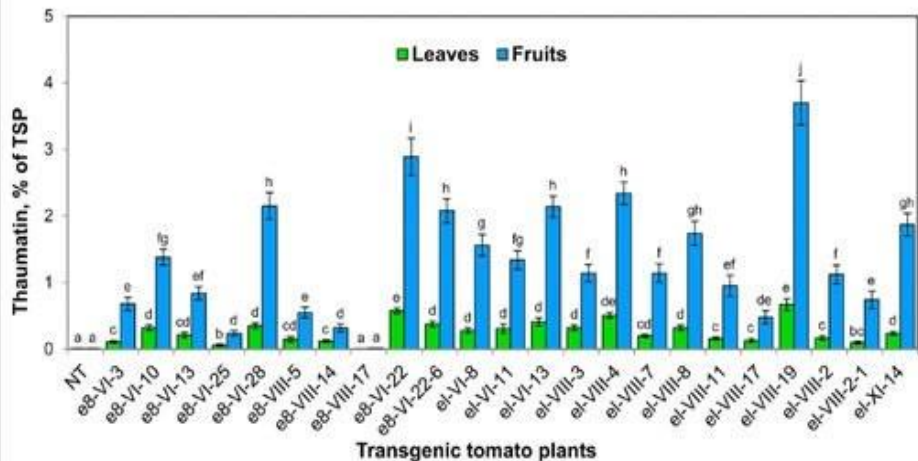
Fesenko I и др. (2019) Distinct types of short open reading frames are translated in plant cells. *Genome Res* (ИФ 9.944)

СОЗДАНИЕ БЕЗМАРКЕРНЫХ РАСТЕНИЙ ТОМАТА С ТКАНЕСПЕЦИФИЧНОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕТЕРОЛОГИЧНОГО ЦЕЛЕВОГО БЕЛКА НА ОСНОВЕ СИСТЕМЫ РЕКОМБИНАЦИИ И ОРИГИНАЛЬНОГО ПРОМОТОРА

Экспрессионная кассета до и после индукции рекомбиногенеза



Накопление целевого белка в плодах и листьях трансгенных растений



Влияние длины промотора гена ELIP на уровень экспрессии гена gus на разных стадиях созревания плодов томата (слева длина н.п.)

Клонирован и детально изучен светоиндуцибельный плодоспецифичный промотор томата ELIP, использованный в дальнейшем для создания безмаркерных трансгенных растений томата на основе системы рекомбинации MF1 с плодоспецифической экспрессией гетерологичного белка тауматина

Timerbaev V и др. (2019) Production of marker-free tomato plants expressing the supersweet protein thaumatin II gene under the control of predominantly fruit-specific promoters. *Plant Cell Tissue Organ Cult* (2.2)

Timerbaev V и др. (2019) Functional characterization of a strong promoter of the early light-inducible protein gene from tomato. *Planta* (3.06)

ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ БЕЗМАРКЕРНЫХ МАСЛИЧНЫХ РАСТЕНИЙ *CAMELINA SATIVA*, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕН АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ЦЕКРОПИНА P1

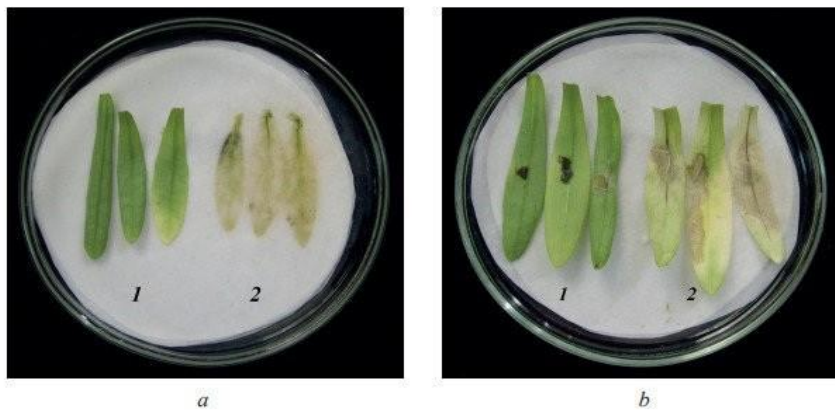


Рис. 6. Устойчивость отдельных листьев трансгенных растений рыжика к фитопатогенным микроорганизмам *E. carotovora* (a) и *F. graminearum* (b) через неделю после инфицирования. 1 – листья трансгенных растений (полное сохранение первоначальных плотности и цвета); 2 – листья контрольных растений (некроз и гибель ткани)

Природа и относительное содержание (%) жирных кислот в семенах контрольных и трансгенных растений рыжика посевного (*Camelina sativa* (L.))

The nature and relative content of fatty acid of control and transgenic plants seeds *Camelina sativa* (L.)

Жирная кислота*	Контроль	Трансгенные линии				
		1	2	3	4	5
Пальмитиновая (C _{16:0})	10,6	8,3	8,2	8,0	9,3	8,6
Стеариновая (C _{18:0})	3,8	2,9	3,1	3,1	3,5	3,4
Олеиновая (цис-9-октадеценивая) (C _{18:1})	11,5	13,4	9,5	9,7	8,7	8,3
Линолевая (октадекадиеновая) (C _{18:2} ω6)	23,1	18,9	17,5	17,8	22,0	20,8
α-Линоленовая (октадекатриеновая) (C _{18:3} ω3)	30,4	32,0	38,7	38,0	33,1	35,5
Арахидоновая (эйкозеновая) (C _{20:0})	2,1	1,4	1,7	1,7	1,9	2,0
Гондоиновая (цис-11-эйкозеновая) (C _{20:1})	10,7	4,2	12,8	12,7	11,5	12,0
Эруковая (цис-13-докозеновая) (C _{22:1})	2,3	1,9	2,5	2,3	2,4	2,5
Абсолютное содержание суммы всех ЖК в биомассе семян, %	17,9	24,8	22,2	24,8	17,2	22,2
Отношение ω3/ω6 (w/w)	1,1	1,7	2,2	2,1	1,5	1,7

Примечание: Приведены средние арифметические величины трех аналитических измерений из трех биологических повторностей. Во всех случаях величина стандартного отклонения не превышала 3% от среднего.

*В липидах растений содержались также пальмитолеиновая кислота (цис-9-гексадеценивая, C_{16:1} ω6-9); вакценовая (цис-11-октадеценивая) (C_{18:1} ω6-11); паулиновая (цис-13-эйкозеновая) (C_{20:1}); бегеновая (докозеновая) (C_{22:0}); докозодиеновая (C_{22:1}); нервоновая (цис-15-тетракозеновая) (C_{24:1}); эйкозодиеновая (C_{20:2} ω6); эйкозатриеновая (C_{20:3} ω3), концентрация каждой из которых составляла ≤ 2%.

Таблица 2

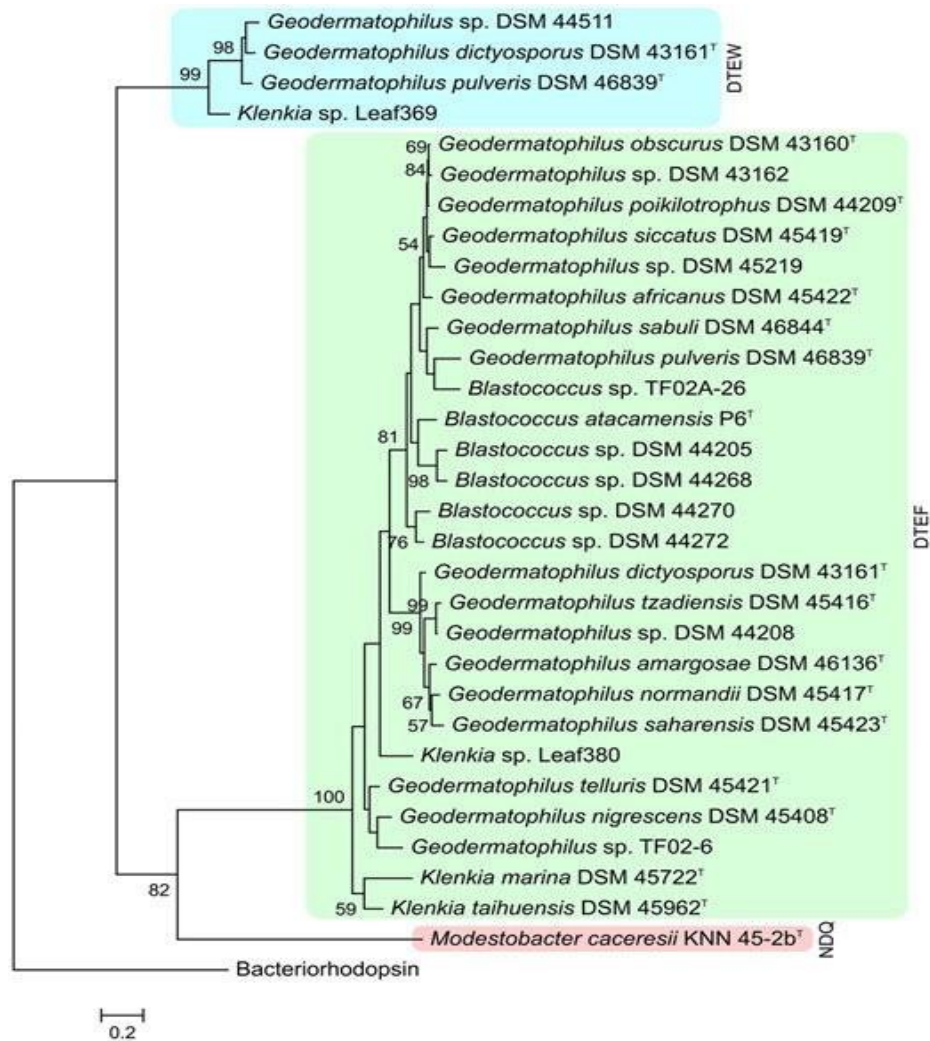
Получены и исследованы безмаркерные масличные трансгенные растения камелины (*Camelina sativa* (L.) Crantz), с синтетическим геном антимикробного пептида цекропина P1 под контролем промотора 35S РНК вируса мозаики цветной капусты. Для трансформации растений был использован агробактериальный бинарный вектор, не содержащий селективных генов устойчивости к антибиотикам и гербицидам. Скрининг безмаркерных трансформантов проводили по детектированию цекропина P1 по его антибактериальной активности и с помощью иммуоферментного анализа.

- ❑ Полученные растения проявляют повышенную устойчивость к инфекции бактерией *Erwinia carotovora*, грибом *Fusarium graminearum* и к окислительному стрессу в условиях заражения.
- ❑ Анализ жирнокислотного состава семян нетрансгенных и трансгенных линий камелины, экспрессирующих ген сесP1, показал повышенное количество α-линоленовой кислоты по сравнению с семенами немодифицированных растений.
- ❑ Полученные растения перспективны для использования в сельскохозяйственной биотехнологии.

Zakharchenko NS и др. (2019) Obtaining and Analysis of Marker-free Oil Plants *Camelina sativa* (L.) Expressing Gene for Antimicrobial Peptide Cecropin P1. **APPL BIOCHEM MICRO+** (ИФ 0.727)

Zakharchenko NS и др. (2019) Obtaining and Analysis of Marker-free Oil Plants *Camelina sativa* (L.) Expressing Gene for Antimicrobial Peptide Cecropin P1. **Biotekhnologiya**

РАЗНООБРАЗИЕ РОДОПСИНОВ В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ МИКРООРГАНИЗМАХ СЕМЕЙСТВА GEODERMATOPHILACEAE, АССОЦИИРОВАННЫХ С НЕВОДНЫМИ МЕСТАМИ ОБИТАНИЯ

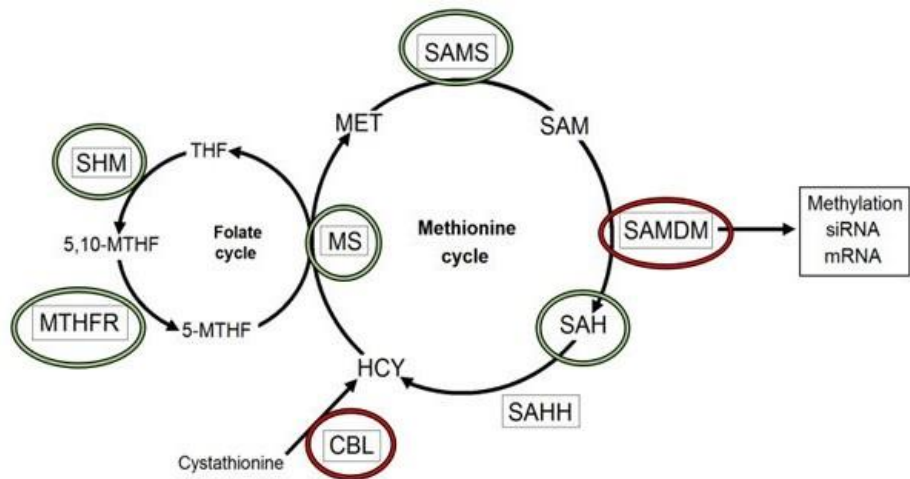


Обнаружено большое количество различных родопсинов в культивируемых бактериях, выделенных из жарких и засушливых экологических ниш. Всего выявлен 31 ген родопсина в 51 проанализированном геноме штаммов, принадлежащих к семейству Geodermatophilaceae.

- ❑ В целом, 88% штаммов, несущих родопсины, выделены из неводных сред. Было обнаружено, что 82% штаммов, принадлежащих к роду *Geodermatophilus*, имеют по меньшей мере один ген по сравнению с 38% штаммов других родов, которые содержат родопсины. Анализ ключевых аминокислот выявил две группы изучаемых белков: DTE (предположительно протонный насос) и NDQ (предположительно натриевый насос).
- ❑ Протонные насосы были разделены на две подгруппы (DTEW и DTEF) в соответствии с филогенетическим анализом и наличием высококонсервативного триптофана или фенилаланина в положении 182. Среди всех изученных родопсинов подтип DTEF является наиболее уникальным, и обнаружен только в этом семействе.
- ❑ На рисунке показано филогенетическое дерево белковых последовательностей родопсинов, обнаруженных у бактерий семейства Geodermatophilaceae.

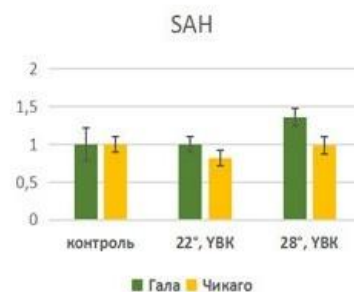
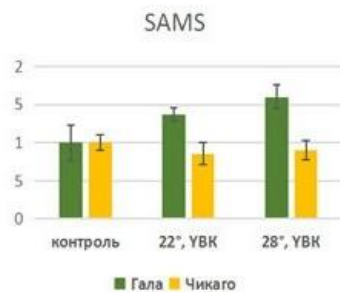
Tarlachkov SV и др. (2019) Diversity of rhodopsins in cultivated bacteria of the family Geodermatophilaceae associated with non-aquatic environments. *Bioinformatics* (ИФ 4.531)

КЛАСТЕР ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЕМЫХ БЕЛКОВ МЕТИОНИНОВОГО ЦИКЛА В СОРТАХ КАРТОФЕЛЯ, КОНТРАСТНЫХ В ОТВЕТЕ НА КОМБИНИРОВАННЫЙ СТРЕСС



Публикации за 2019 г:

1. *New Phytologist* (v. 224, 1, p. 439-453, 2019). IF=7.299, Q1.
2. *Phytopathology* (2019). IF=3.264, Q1.
3. *International Journal of Molecular Sciences* (v. 20(8), 1814, 2019). IF=4.183, Q1.
4. *Plant disease* (v.103, 1, 2019). IF=2.941, Q1.
5. *Journal of Experimental Botany* (Accepted, 2020). IF=5.360, Q1.



Сравнительный количественный протеомный анализ сортов картофеля Гала и Чикаго, контрастных в ответе на биотический стресс (инфекция Y вирусом картофеля, YBK) и абиотический тепловой стресс (повышение температуры до 28°C) выявил кластер дифференциально экспрессируемых белков-участников метионинового цикла. Известно, что метилирование РНК/ДНК является важным фактором, влияющим на устойчивость растений к вирусной инфекции и возможно, толерантность к абиотическим стрессам.

В растениях восприимчивого сорта Чикаго снижено количество пяти белков (на схеме выделены зеленым цветом), участвующих в процессе метилирования. Напротив, в растениях устойчивого сорта Гала увеличено количество цистатион β-лиазы и SAM метилтрансферазы (на схеме отмечены красным цветом), участвующих в превращении S- аденозилметионина - донора метильной группы. Проанализированы уровни экспрессии генов некоторых из белков метионинового цикла методом количественной ПЦР в реальном времени. Сравнение полученных данных с результатами протеомного анализа показало, что снижение количества белков метионинового цикла у восприимчивого сорта Чикаго происходит на трансляционном, а не на транскрипционном уровне. Предполагается, что восприимчивость к стрессам растений картофеля сорта Чикаго может быть связана с пониженным уровнем белков, участвующих в метилировании.



ОТДЕЛ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ РАСТЕНИЙ (рук. член-корр. РАН С.К. Завриев)





ОТДЕЛ ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ ГЛИКАНОВ И ЛИПИДОВ (рук. д.х.н. Н.В. Бовин)

ИФ 41,8

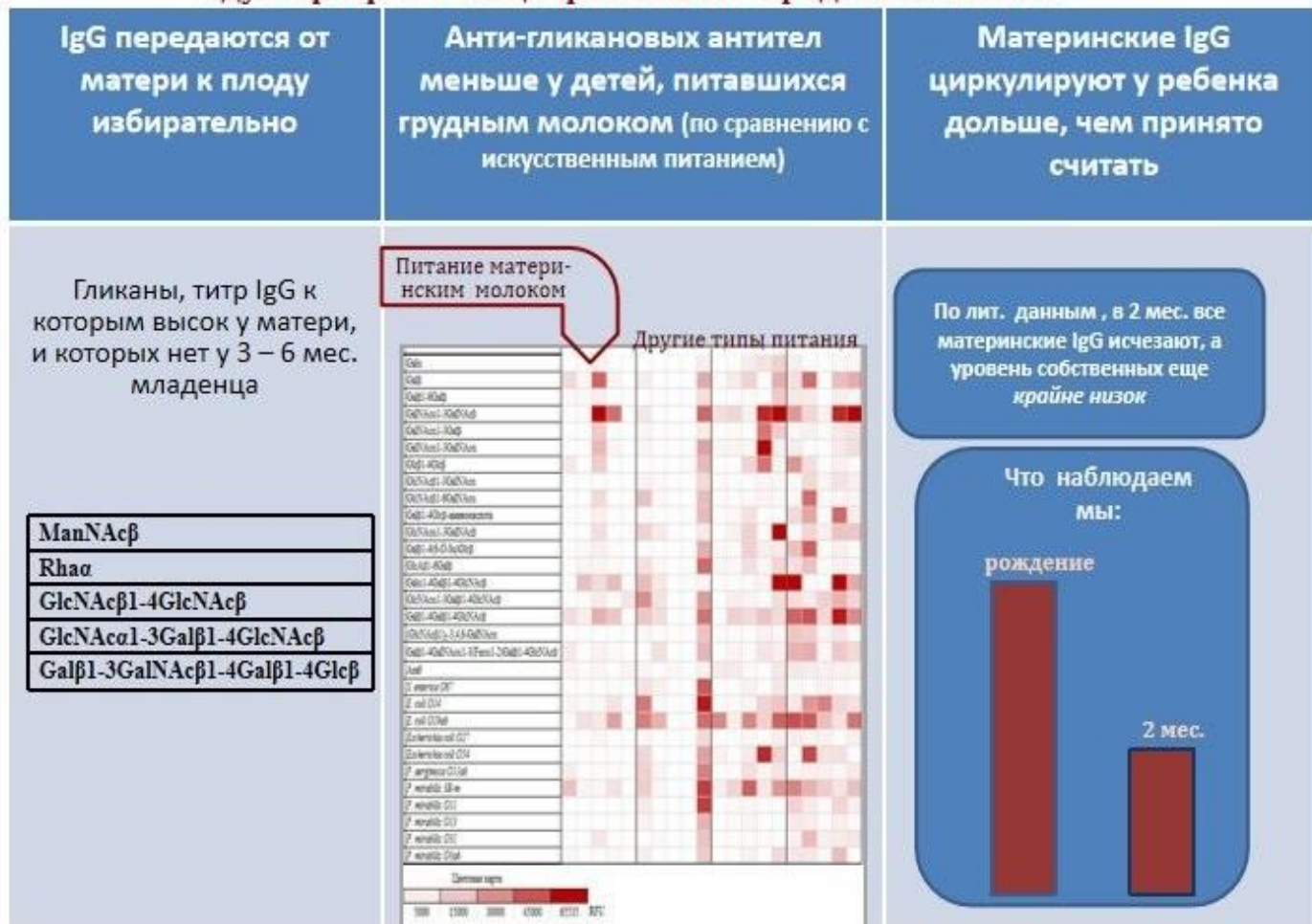
- **Лаборатория углеводов**
Н.В. Бовин

ИФ 11,7

- **Лаборатория химии липидов**
Е.Л. Водовозова

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕЗИСА ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИТЕЛ ЧЕЛОВЕКА В ТЕЧЕНИЕ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ ВЫЯВИЛО ТРИ АСПЕКТА, КОТОРЫЕ ИДУТ ВРАЗРЕЗ С ИМЕЮЩИМИСЯ ПРЕДСТАВЛЕНИЯМИ

Генезис естественных антител человека: наши данные, которые идут вразрез с общепринятыми представлениями

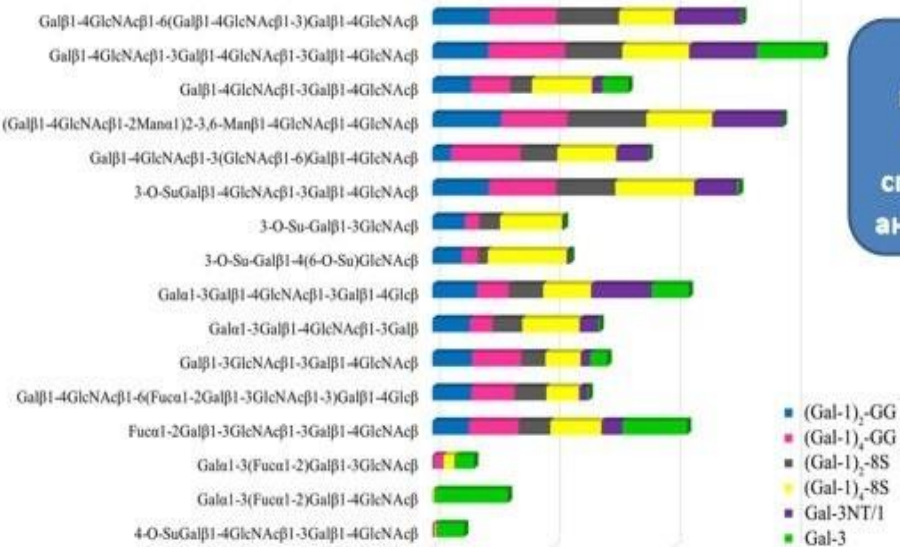
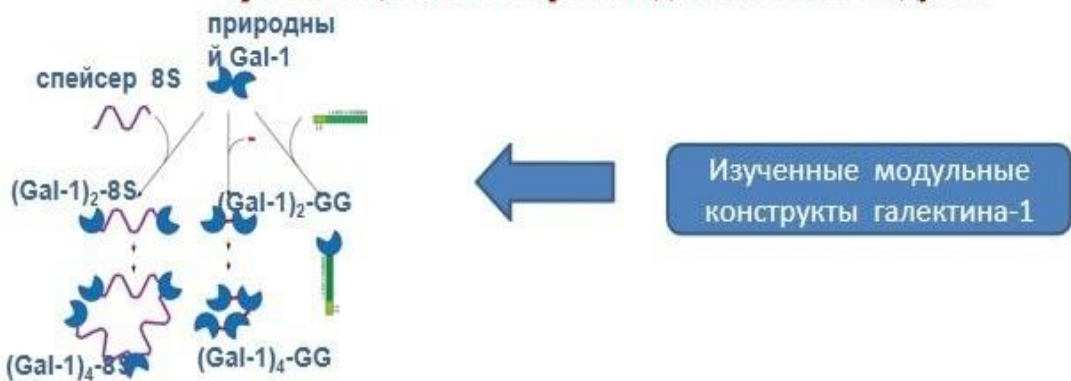


- ❑ Не все IgG матери обнаруживаются у ребенка, некоторые специфичности отсутствуют до 12-месячного возраста. То есть, по-видимому существует механизм, предотвращающий их миграцию через плаценту.
- ❑ Анти-гликановых антител меньше у детей, питавшихся грудным молоком. То есть, «неестественное» питание сопровождается слишком ранним появлением антител.
- ❑ Считалось, что в возрасте 2 месяцев у младенца уже нет материнских IgG, Мы видим, что их уровень в этом возрасте всего лишь вдвое меньше, то есть, остается существенным.

N.R. Khasbiullina, N.V. Shilova, M.E. Navakouski, A.Yu. Nokel, O. Blixt, L.O. Kononov, Yu.A. Knirel, N.V. Bovin. The repertoire of human antiglycan antibodies and its dynamics in the first year of life. (2019). *Biochemistry (Moscow) (ИФ 1,8)*

ГЛИКАНОВАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ГАЛЕКТИНОВ ЗАВИСИТ ОТ «МОДУЛЬНОЙ» ОРГАНИЗАЦИИ, НЕСМОТРИ НА ОДИНАКОВОСТЬ СУБЪЕДИНИЦ-МОДУЛЕЙ

Гликановая специфичность галектина зависит от его модульной организации, несмотря на одинаковость модулей

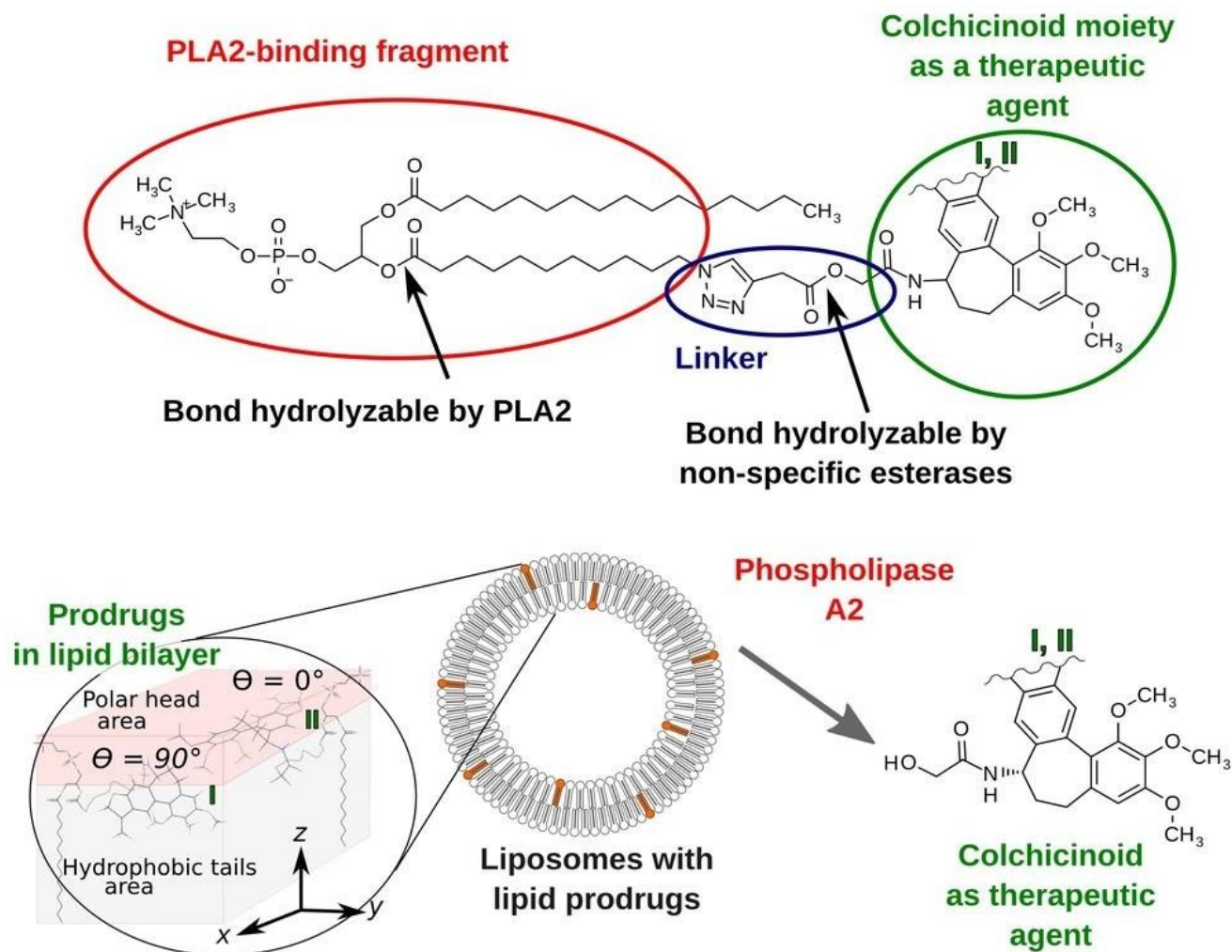


В частности, конструкции-димеры галектина-1 теряют способность связывать антиген группы крови В

В приведенном примере изучались варианты рекомбинантного галектина-1, у которого углевод-связывающие домены организованы не так, как у нативного белка. У нативного белка два домена соединены хвост-к-хвосту встык. Мы изучали тоже двух-доменные варианты, но с дополнительным коротким и длинным спейсером; а также четырех-доменные.

- Оказалось, что двух-доменные конструкции избирательно теряют способность связываться с некоторыми из канонических гликанов-лигандов галектина-1. Аналогичное явление наблюдалось и для галектина-3.

T.J. Kutzner, A. Gabba, F.G. FitzGerald, N.V. Shilova, G. García Caballero, A.K. Ludwig, J.C. Manning, C. Knospe, H. Kaltner, F. Sinowatz, P.V. Murphy, M. Cudic, N.V. Bovin, H.-J. Gabius. How altering the modular architecture affects aspects of lectin activity: case study on human galectin-1. (2019). *Glycobiology* (ИФ 4.194)



- С учётом строения сайта связывания субстрата фосфолипазы A2 (PLA2) и профиля латерального давления липидного бислоя разработаны и синтезированы фосфолипидные аналоги колхициноидов для встраивания в мембрану фермент-чувствительных липосом.
- Полученные липофильные пролекарства колхициноидов минимально нарушают строение бислоя; в составе липосом они проявляют цитотоксичность в субмикромольном диапазоне.

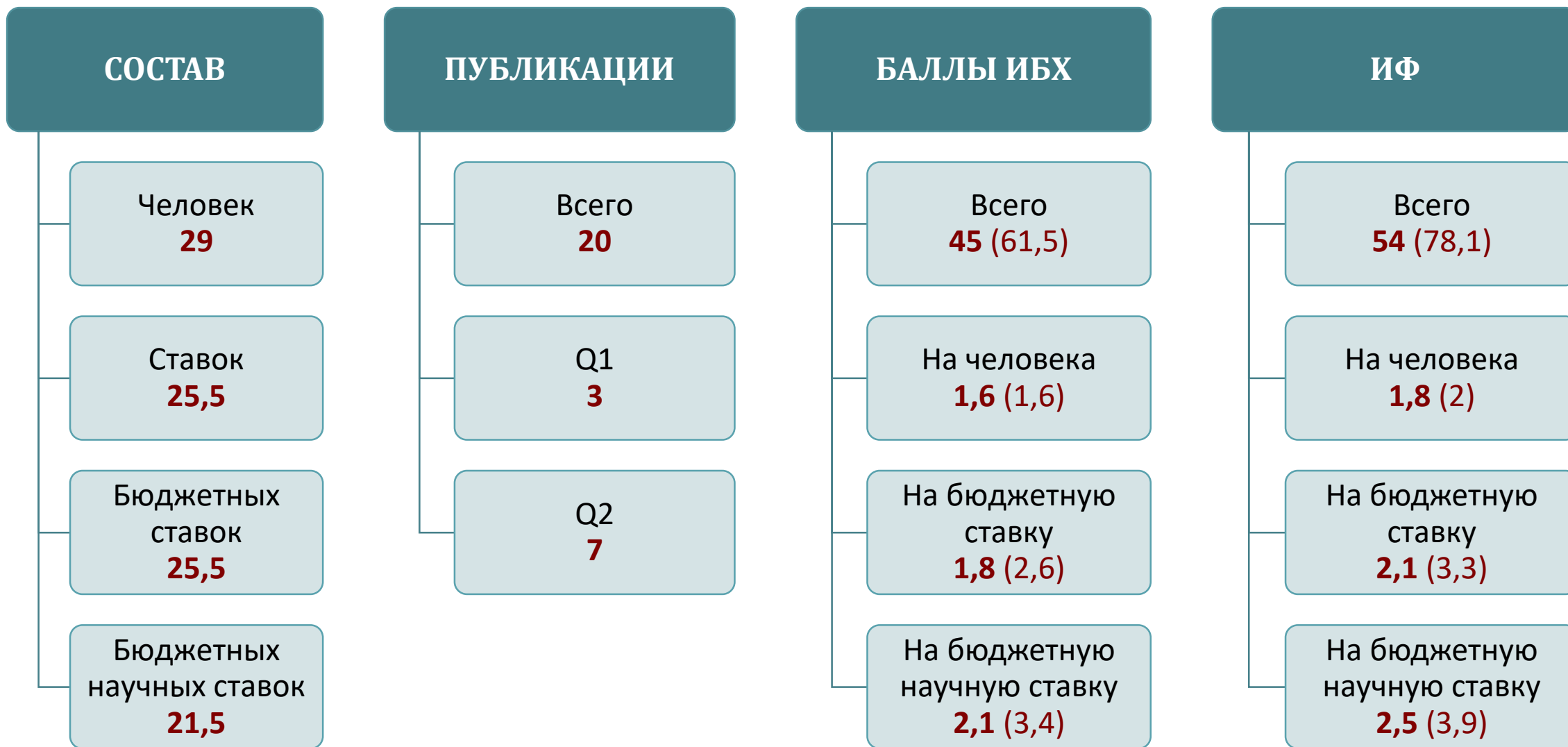
Shchegravina ES и др. (2019) Phospholipidic Colchicinoids as Promising Prodrugs Incorporated into Enzyme-Responsive Liposomes: Chemical, Biophysical, and Enzymological Aspects. *Bioconj Chem (ИФ 4.349)*

Arantseva D., Vodovozova E. (2018) Platinum-based antitumor drugs and their liposomal formulations in clinical trials. *Rus J Bioorg Chem (ИФ 0.838)*

Vinklárek I.S. et al. (2019) Experimental evidence of the existence of interleaflet coupled nanodomains: an MC-FRET study. *J. Phys. Chem. Lett. (ИФ 8,709)*



ОТДЕЛ ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ ГЛИКАНОВ И ЛИПИДОВ (рук. д.х.н. Н.В. Бовин)





ОТДЕЛ БИОМОЛЕКУЛЯРНОЙ ХИМИИ (рук. д.х.н. И.В. Ямпольский)

ИФ 34,5

- **Лаборатория химии метаболических путей**
И.В. Ямпольский

ИФ 35,6

- **Лаборатория химии гетероциклических соединений**
М.С. Баранов

ИФ 23,9

- **Группа синтетической биологии**



СВЕТ



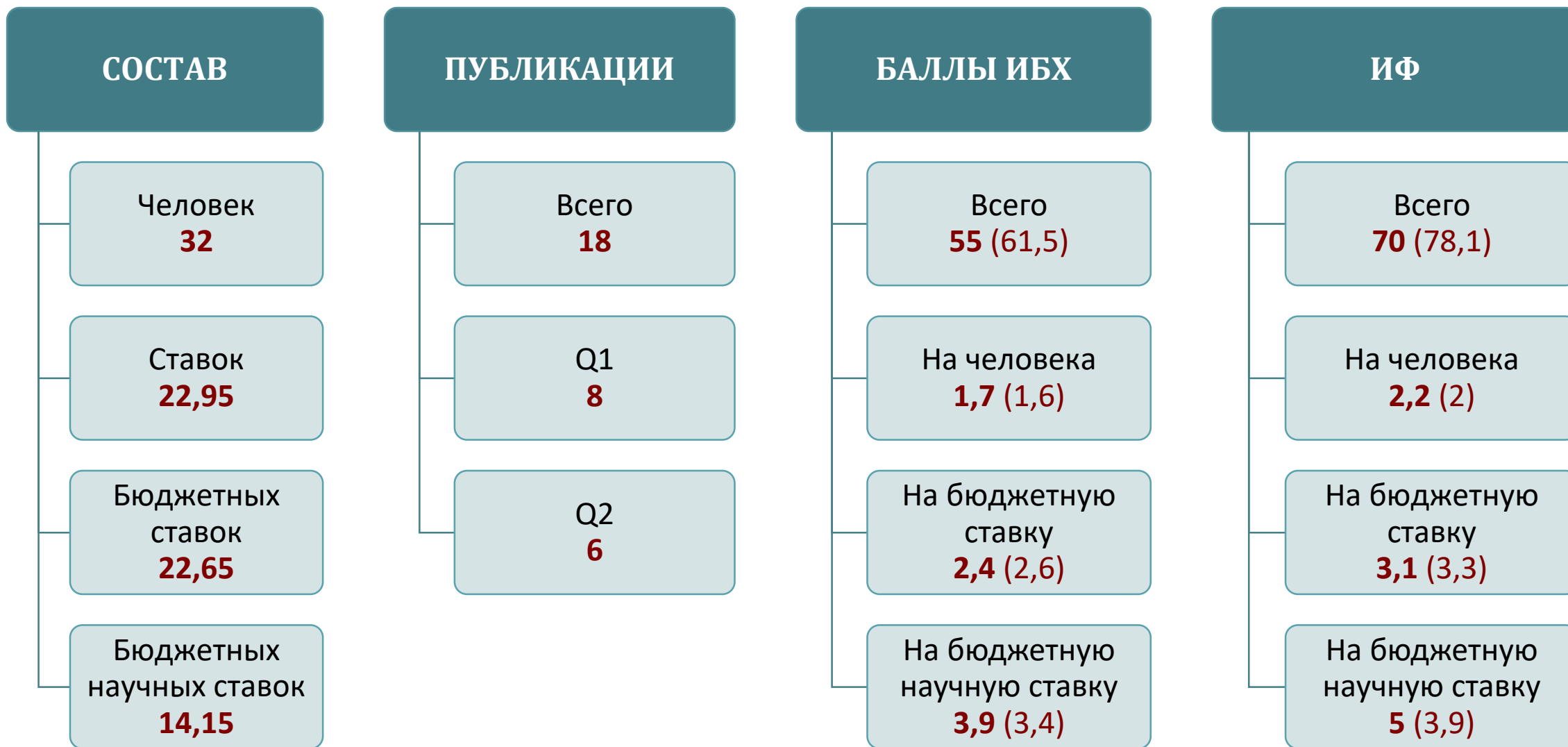
Odontosyllis undecimdonga

ТЕМНОТА



- Впервые определены структуры трех ключевых низкомолекулярных компонентов билюминесцентной системы морских полихет *Odontosyllis undecimdonga*: люциферина, оксилуциферина (Green), а также продукта неспецифического окисления люциферина (Pink) кислородом.
- Установлено, что эти соединения имеют крайне необычный гетероциклический скелет, содержащий три атома серы с различными степенями окисления.
- Предложены химические механизмы ферментативного (люминесцентного) и неферментативного окисления люциферина *Odontosyllis*.
- Более того, выявлено, что оксилуциферин *Odontosyllis* является единственным из известных для морских люминесцентных организмов первичным эмиттером зеленого света.

Kotlobay AA и др. (2019) Bioluminescence chemistry of fireworm *Odontosyllis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* (ИФ 9.58)





ОТДЕЛ БИОМАТЕРИАЛОВ И БИОНАНОТЕХНОЛОГИЙ (рук. д.ф.-м.н. В.А. Олейников)

ИФ 22,8

- **Лаборатория молекулярной биофизики**
В.А. Олейников

ИФ 21,8

- **Лаборатория полимеров для биологии**
В.П. Зубов

ИФ 17,3

- **Лаборатория биомедицинских материалов**
Е.А. Марквичева

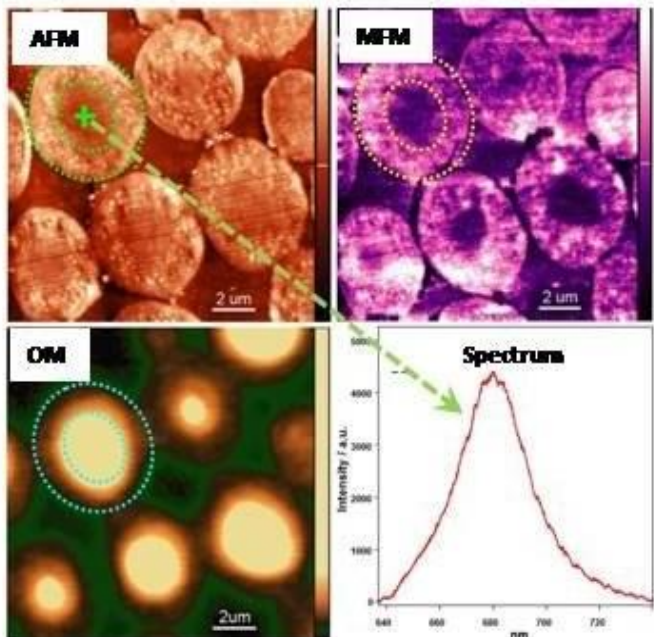
ИФ 3,3

- **Лаборатория иммунохимии**
А.Ф. Бровко

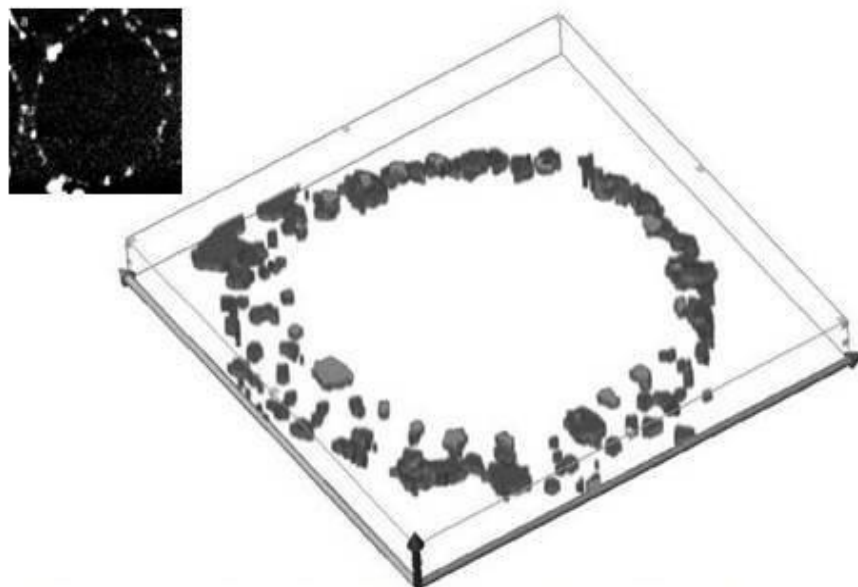
ИФ 1,5

- **Группа молекулярной экологии**
О.Е. Трубецкая

МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ 3-D РАСПРЕДЕЛЕНИЙ МАГНИТНЫХ НАНООБЪЕКТОВ В МАТРИЦЕ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ «АНАТОМИИ» МИКРОЧАСТИЦ ДЛЯ МУЛЬТИПЛЕКСНОЙ ДИАГНОСТИКИ



Корреляционный спектрально-топографический анализ срезов полимерных микрофер (5,5 мкм, Bangs Laboratories, Inc., США)

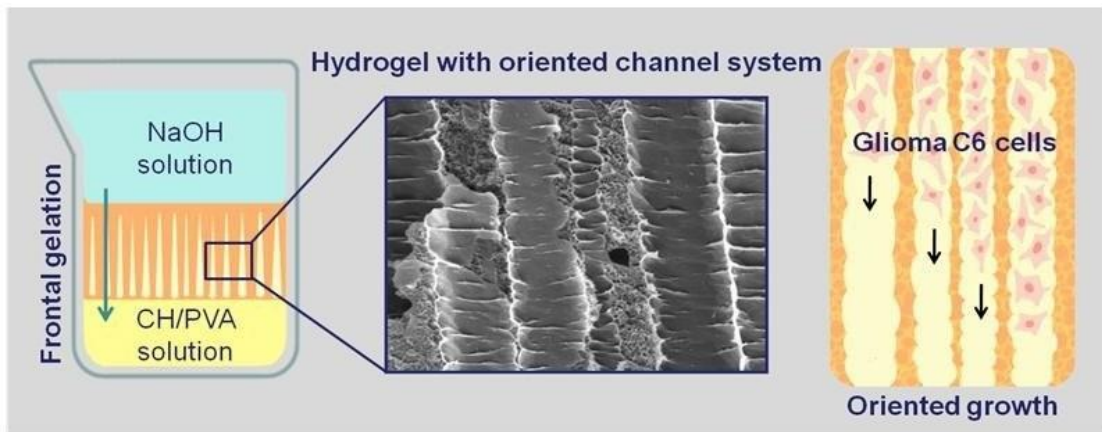


Трехмерная реконструкция распределения магнитных наночастиц на поверхности микроферы Lumipex 39, Изображение 7,0 × 7,0 × 1,0 мкм, 10 срезов толщиной 100 нм.

- Разработана методика определения 3-D распределений магнитных нанобъектов в матрице на основе использования потенциала разработанной ранее в ИБХ РАН уникальной научной установки.
- Возможности метода продемонстрированы на примере определения 3-D распределения магнитных наночастиц в полимерных микрочастицах (фирма Lumipex) для мультиплексной диагностики, включая метаболические заболевания, иммунологию, нейродегенеративные заболевания, токсичность, рак и другие, с использованием минимальных объемов образца.

Mochalov KE и др. (2017) An instrumental approach to combining confocal microspectroscopy and 3D scanning probe nanotomography. *Ultramicroscopy (ИФ 2.644)*

АНИЗОТРОПНЫЕ ГИДРОГЕЛИ С СИСТЕМОЙ ОРИЕНТИРОВАННЫХ КАНАЛОВ ДЛЯ НАПРАВЛЕННОГО РОСТА КЛЕТОК ЖИВОТНЫХ

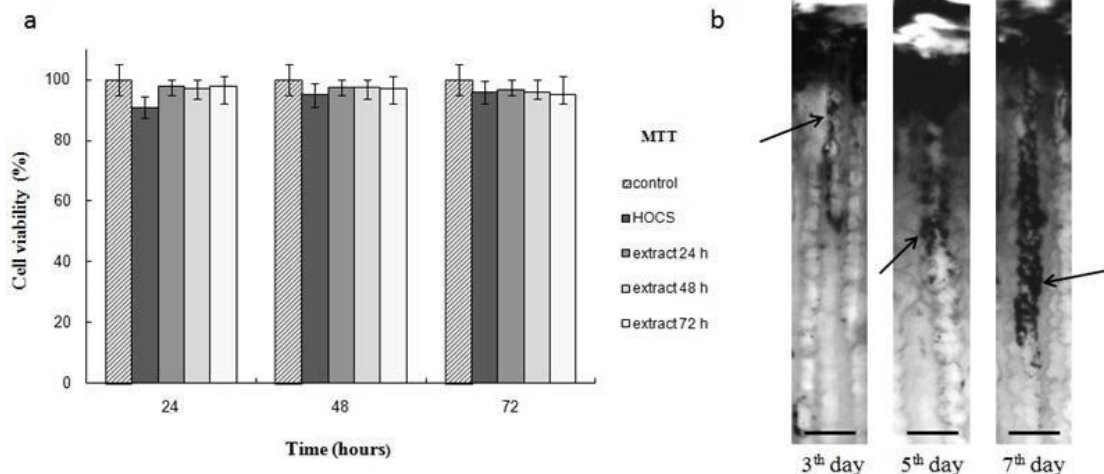


Актуальной задачей тканевой инженерии является поиск материалов, которые могут быть использованы в качестве альтернативы аллотрансплантатам.

Была разработана методика получения гидрогелей с биомиметической структурой, имитирующей периневрий/эпиневрий периферического нерва.

Анизотропные гидрогели образуются в результате фазового разделения композиций хитозан-ПВС в присутствии осадителя, сопровождающегося формированием параллельно ориентированных каналов.

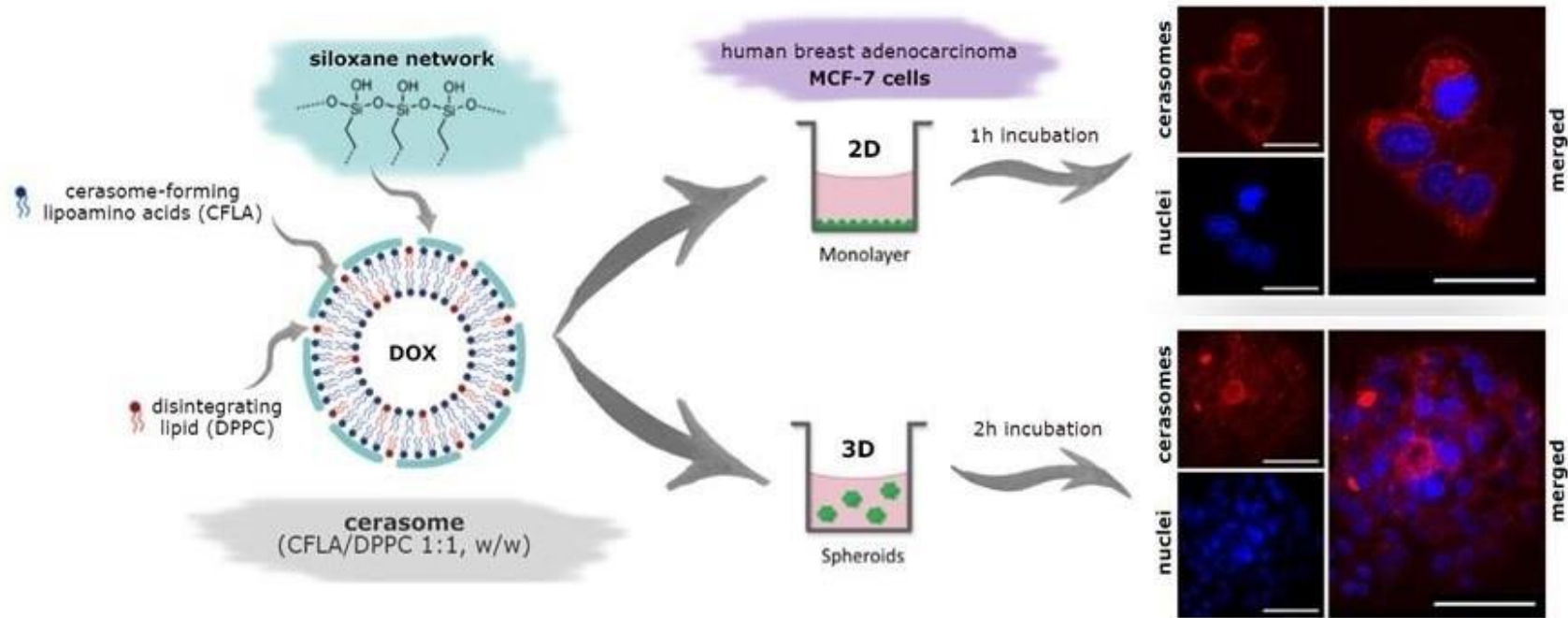
Полученные гидрогели характеризуются низким уровнем цитотоксичности и обеспечивают направленный рост клеток животных (глиомы С6).



Sochilina AV и др. (2019) Multichannel hydrogel based on a chitosan–poly(vinyl alcohol) composition for directed growth of animal cells. *Colloids Surf B Biointerfaces* (3.973)

- a) Жизнеспособность клеток глиомы по данным МТТ теста;
- b) Динамика роста клеток глиомы в анизотропных гелях.

КЕРАСОМЫ ДЛЯ ДОСТАВКИ ДОКСОРУБИЦИНА



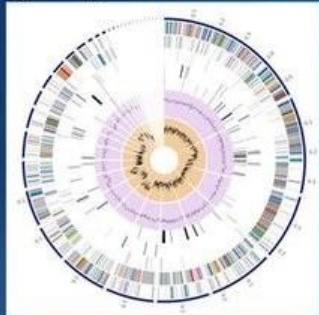
Практически все противораковые лекарства плохо растворимы в воде и обладают низкой селективностью, что приводит к побочным эффектам. Проблему можно решить, загрузив лекарства в наноносители. Однако все представленные в настоящее время на фармацевтическом рынке лекарства на основе наноносителей (липосом) не обладают достаточной стабильностью для обеспечения длительного их циркулирование в кровотоке.

В Лаборатории биомедицинских материалов совместно с коллегами из Московского технологического университета (кампус МИТХТ) разработали и протестировали в 3D *in vitro* модели липосомы нового типа – керасомы. Последние представляют собой модифицированные катионные липосомы, покрытые кремний-органической оболочкой, что позволяет обеспечить пролонгированное высвобождение противораковых лекарств, в частности доксорубицина.

Gileva A и др. (2019) Lipoamino acid-based cerasomes for doxorubicin delivery: Preparation and in vitro evaluation. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* (4.959)

Полногеномный анализ штаммов *S. aureus*, ассоциированных с маститом коров Европейской части РФ

► Проведен WGS анализ 28 штаммов *S. aureus*



Сборка и аннотация геномов *S. aureus*. Представленность генов факторов вирулентности в геноме



Выявленные особенности, характерные для РФ

- 100 %-ая встречаемость генов цитотоксинов (гемолизины, лейкоцидины)
- В группе энтеротоксинов чаще всего встречаются *seg* и *sei*, которые формируют *egc* кластер
- Характерна множественная антибиотикоустойчивость (MDR *S. aureus*). Не обнаружены гены метициллин-резистентности.

Антибиотикоустойчивость *S. aureus*

Эффект	Антибиотик
Устойчивость	Erythromycin, Gentamicin, Penicillin
Чувствительность	Ciprofloxacin, Clindamycin, Methicillin, Tetracycline, Trimethoprim/Sulfamethoxazole

Отдел биоматериалов и бионанотехнологий, лаборатория иммунохимии ФИБХ РАН

Fursova, K. K., Artem'eva, O. A., Nikanova, D. A., Larin, A. K., Zinovieva, N. A., & Brovko, F. A. (2018). Draft Genome Sequences of Five Staphylococcus aureus Strains Isolated from Clinically Healthy Cows in the Russian Federation.

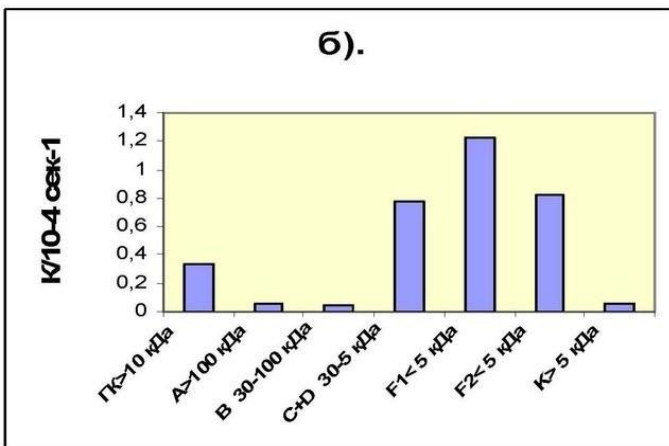
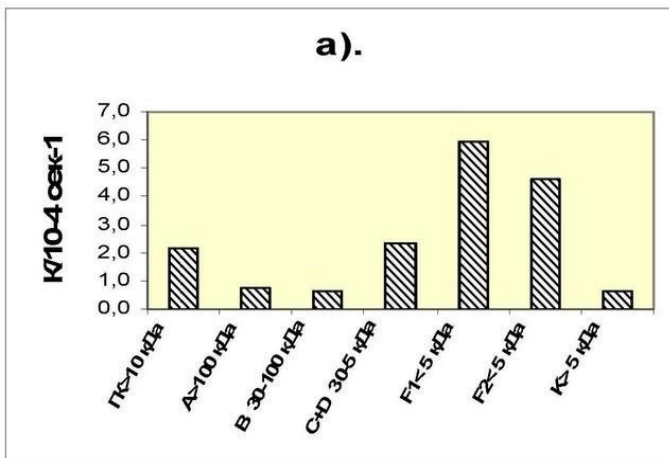
Genome Announcements (ИФ 0,78)

Fursova K. A. Sorokin, I. Loskutova, M. Shchannikova, I. Khomyakova, T. Dzhelyadin, D. Nikanova, O. Artem'eva, P. Koshkin, N. Zinovieva, F. Brovko (2019) Variability analysis in the whole-genome sequences of *Staphylococcus aureus* isolates associated with cow's mastitis in Russia. **FEBS Open Bio (ИФ 1.782)**

С помощью метода WGS проведён анализ токсикогенного потенциала *S. aureus*, ассоциированного с маститом КРС (коров). Проведено полногеномное секвенирование 50 штаммов из различных регионов РФ. Для исследованных образцов составлена карта генома, проведена аннотация с использованием различных ресурсов биоинформатики, геномы зарегистрированы в базе данных GenBank.

Исследованные штаммы обладают широким арсеналом факторов вирулентности. Все изоляты несли гены гемолизина; гены лейкоцидинов встречались в 80%. Также у всех изолятов идентифицированы гены адгезинов и гены, ответственные за формирование биоплёнок. Гены энтеротоксинов идентифицированы у 38% изолятов и представлены генным кластером *egc* (*seg* и *sei*). Также у всех изолятов идентифицированы гены эксфолиативных токсинов, хотя их функция при мастите пока не ясна. Частично исследована проблема антибиотикоустойчивости, большинство изолятов относятся к группе MSSA/MDR *S. aureus*. Исследование поддержано РФФ 15-16-00020.

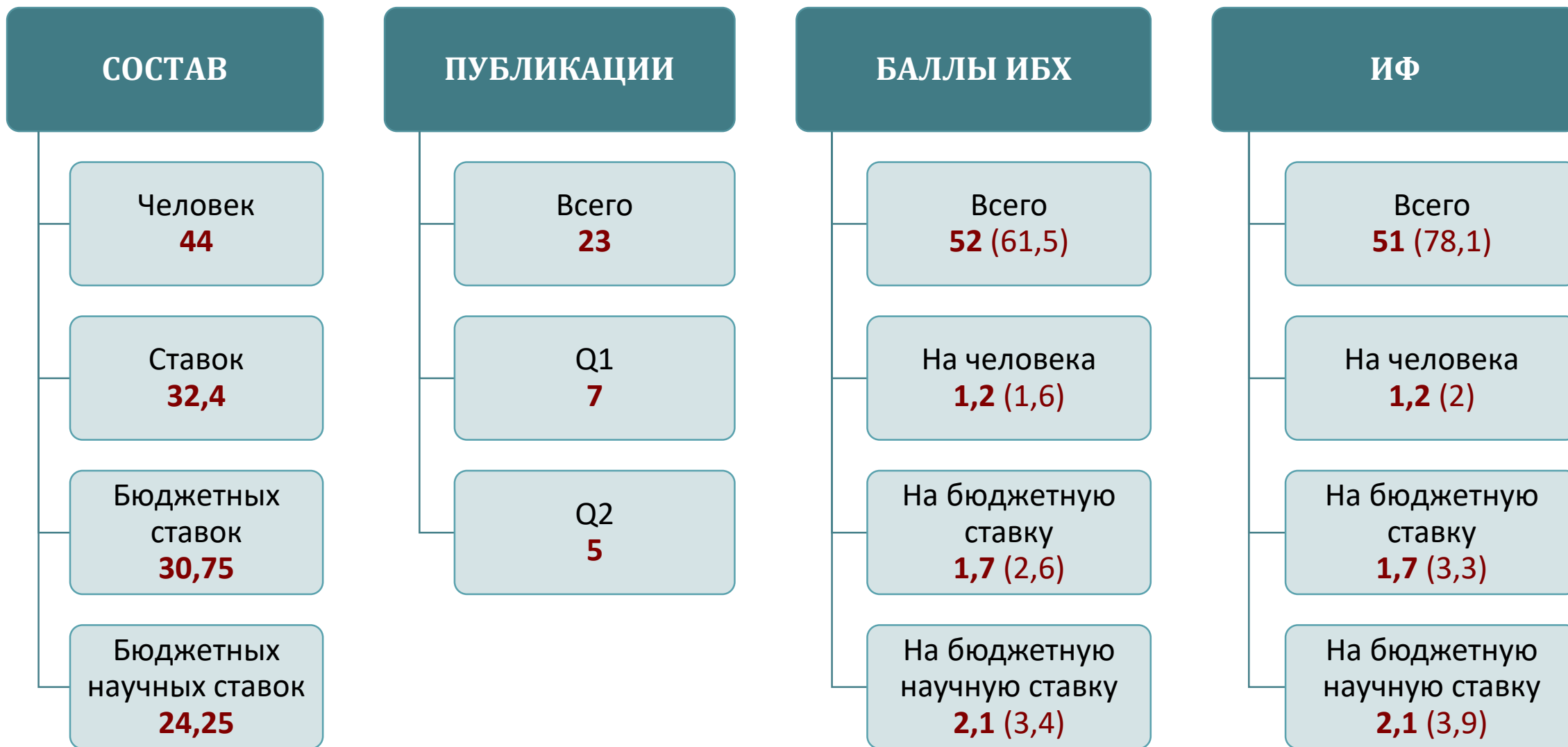
НА ПУТИ К ПОЛУЧЕНИЮ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТЫХ ФОТОДЕСТРУКТОРОВ ОРГАНИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ



Константы скорости реакции разложения триметилфенола (а) и фурфура (б) в присутствии исходного препарата ГК чернозема или фракций А, В, С+D, полученных с помощью эксклюзивной хроматографии, а также концентрата К, ультрафильтратов F1 и F2, полученных с помощью многократной ультрафильтрации

- ❑ Природные коллоидные наночастицы - гуминовые кислоты чернозема (ГК) были фракционированы с помощью (1) препаративной эксклюзивной хроматографии низкого давления или (2) многократной ультрафильтрацией на фракции с номинальными молекулярными размерами >100 кДа, 30-100 кДа, 5-30 кДа и <5кДа и протестированы на способность разрушать модельные ароматические соединения 2,4,6-триметилфенол и фурфурол при освещении полихроматическим светом в диапазоне 300-450 нм.
- ❑ Впервые было обнаружено, что фракции ГК чернозема с МР менее 5 кДа обладают максимальной способностью разлагать выше названные субстраты, в то время как фракции с МР более 30 кДа этой функцией практически не обладают.
- ❑ Полученные данные являются фундаментальным научным базисом для промышленного получения экологически чистых препаратов с функцией эффективной фотодеструкции органических поллютантов.

Trubetskoi OA и др. (2019) Photochemical Degradation of Organic Pollutants in Solutions of Soil Humic Acids. *EURASIAN SOIL SCI+* (ИФ 0.883)





ОТДЕЛ ГЕНОМИКИ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА (рук. д.б.н. Д.М. Чудаков)

ИФ 76

- **Лаборатория методов иммуносеквенирования**
Д.М. Чудаков

ИФ 51,5

- **Лаборатория сравнительной и функциональной геномики**
Ю.Б. Лебедев

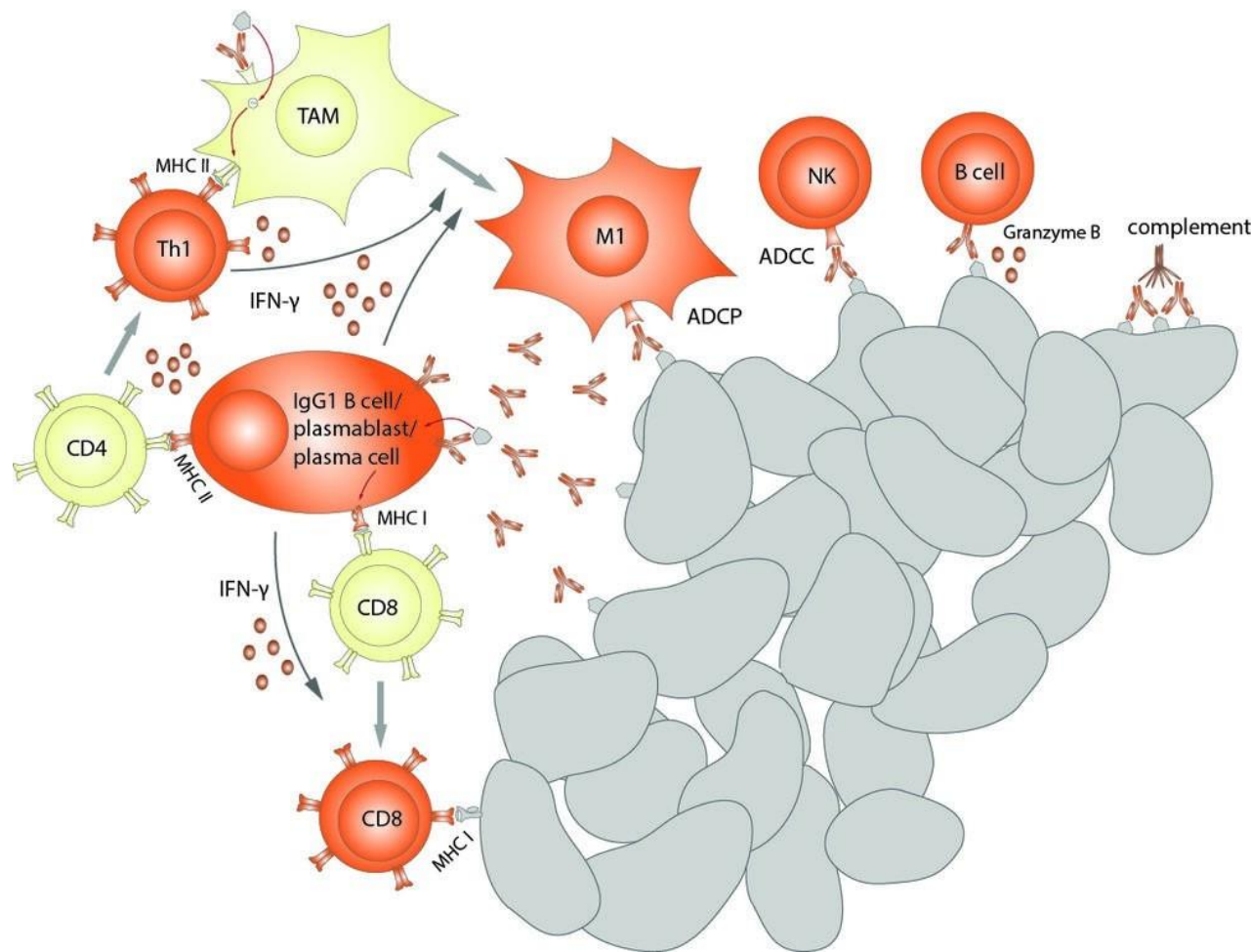
ИФ 34,7

- **Группа структурной организации Т-клеточного иммунитета**
О.В. Британова

ИФ 40,1

- **Группа алгоритмов иммуносеквенирования**
М.А. Шугай

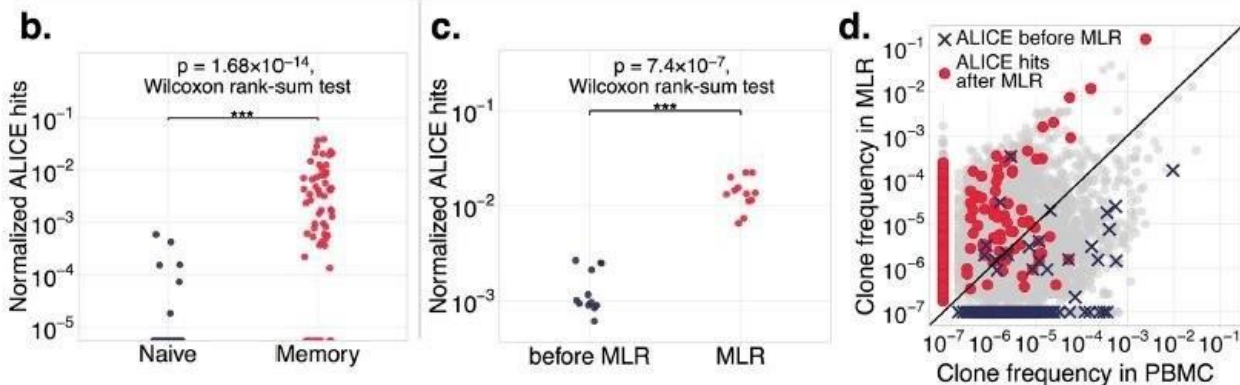
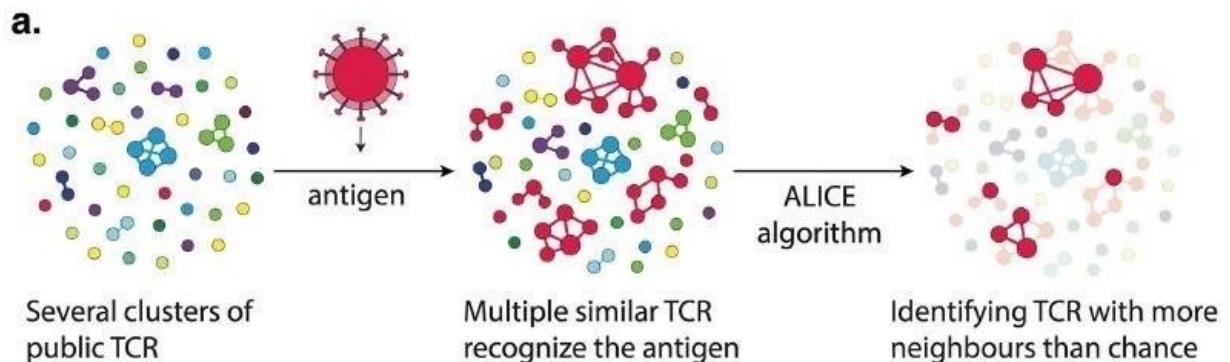
the “good” B cell and antibody roles



- ❑ Впервые показана ассоциация изотипного состава антител и В-клеточных рецепторов в опухолевом окружении и прогноза выживания пациентов, связанная с наличием определенных драйверных мутаций.
- ❑ Роль опухоль-инфильтрирующих В-лимфоцитов впервые системно охарактеризована через призму анализа репертуаров антител и В-клеточных рецепторов. Совместно с Приволжским исследовательским медицинским университетом.

Isaeva OI и др. (2019) Intratumoral immunoglobulin isotypes predict survival in lung adenocarcinoma subtypes. *J Immunother Cancer* (ИФ 8.676)

Sharonov GV, Serebrovskaya EO, Yuzhakova DV, Britanova OV, Chudakov DM (2020). B cells, plasma cells and antibody repertoires in the tumour microenvironment. *Nature Rev. Immunology*, in press.

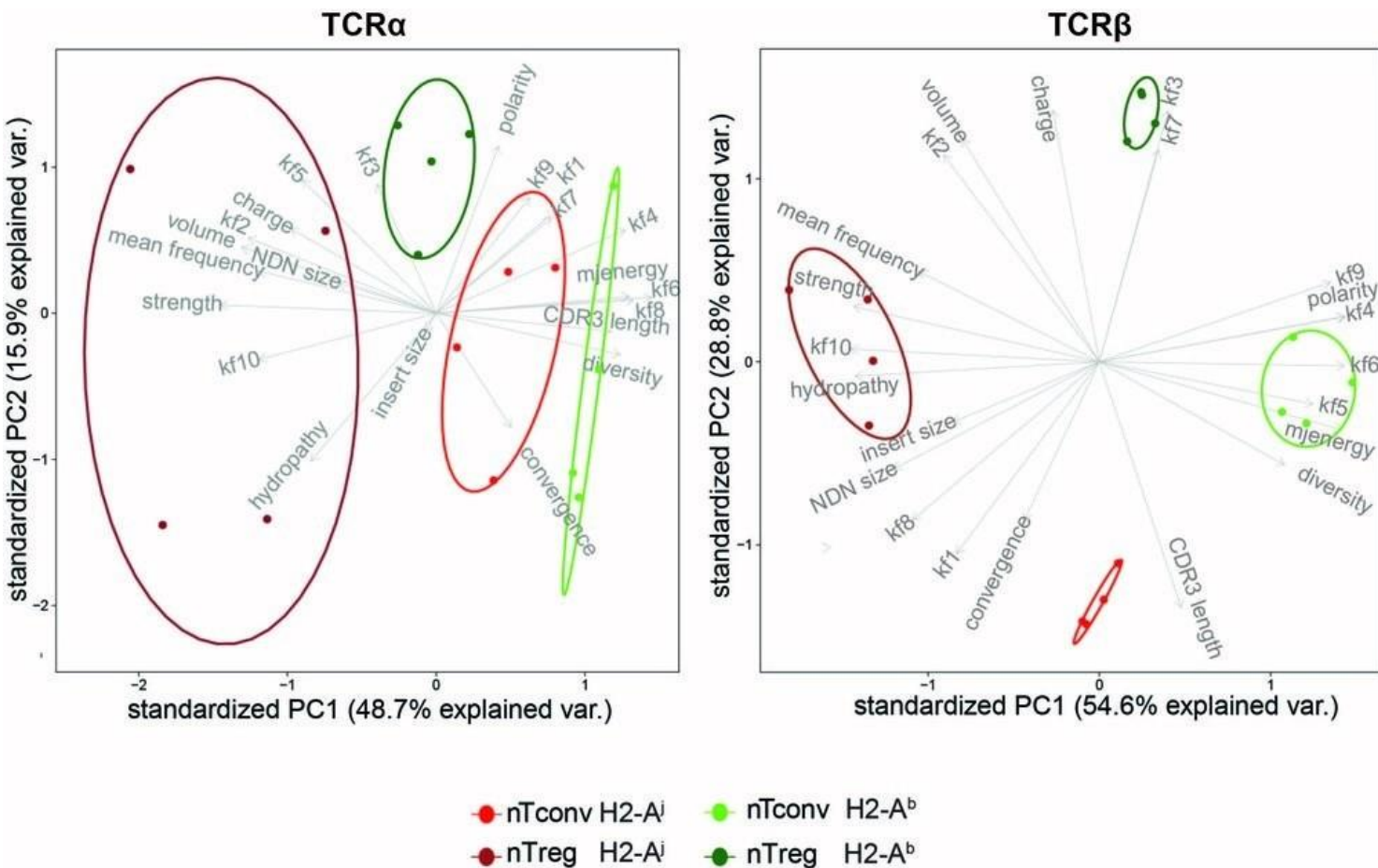


С целью идентификации клинически значимых клонов Т-клеток мы создали метод кластерного анализа секвенированных репертуаров Т-клеточных рецепторов ALICE (рис а). Мы успешно применили наш метод для сравнительного анализа популяций наивных Т клеток и клеток памяти (рис b), для выявления реактивных клонов Т-клеток при MLR тесте (рис с, d), для идентификации характеристических клонов у пациентов с аутоиммунными и онкологическими заболеваниями или у лиц, проходящих противовирусную вакцинацию.

В целом, результаты применения алгоритма ALICE показали, что наш метод эффективно обнаруживает Т-клеточные рецепторы, структурную информацию о которых можно использовать для диагностики различных заболеваний и рационального дизайна вакцин.

Pogorelyy MV и др. (2019) Detecting T cell receptors involved in immune responses from single repertoire snapshots. *PLoS Biol* (ИФ 8.386)

ИССЛЕДОВАНИЕ ФОРМИРОВАНИЯ РЕПЕРТУАРА Т КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ (TCR) В ПОПУЛЯЦИИ CD4+ И РЕГУЛЯТОРНЫХ CD4+ Т ЛИМФОЦИТОВ



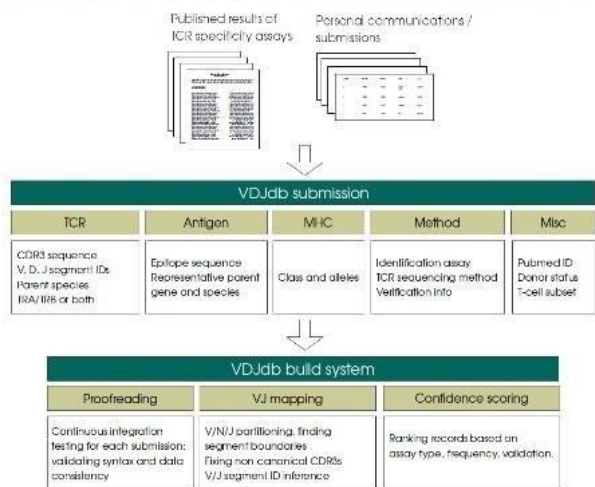
Мы изучили, как разные аллельные варианты MHCII влияют на репертуар TCR наивных хелперных и регуляторных CD4+ Т лимфоцитов у разных линий мышей. Были обнаружены существенные различия в разнообразии, конвергенции и физико-химических свойствах антиген-взаимодействующих участков CDR3 TCR между репертуарами этих мышиных линий. На уровне популяции такие различия могут влиять на индивидуальную восприимчивость к инфекциям.

В другой нашей работе мы обнаружили, что в пуповинной крови и в эмбриональной ткани кишечника присутствуют CD4+ лимфоциты с фенотипом Т клеток памяти. Редкая высоко клональная популяция CD4+ Т клеток памяти в пуповинной крови продуцируют провоспалительный спектр цитокинов и характеризуется высоким сходством TCR репертуара между разными донорами, что может указывать на формирование памяти в ответ на похожие чужеродные антигены.

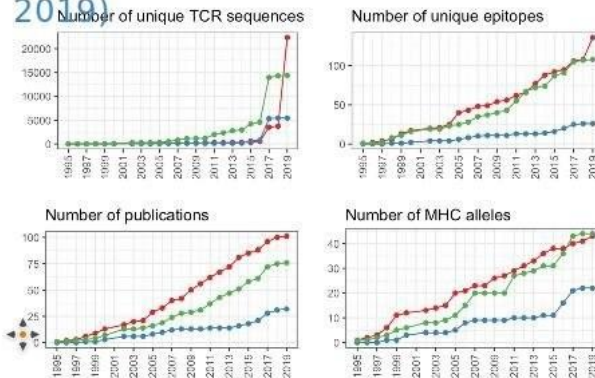
Li N и др. (2019) Memory CD4 T cells are generated in the human fetal intestine. *Nat Immunol* (ИФ 23.53)



СОЗДАНА БАЗА ДАННЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ Т-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

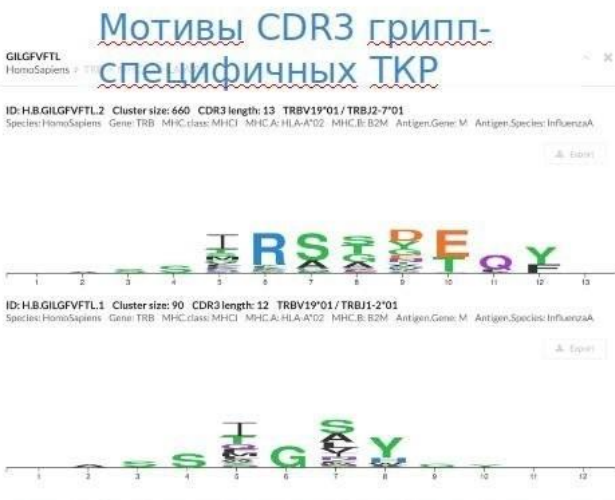


Число записей в VDJdb по году публикации (~60,000 на конец 2019)

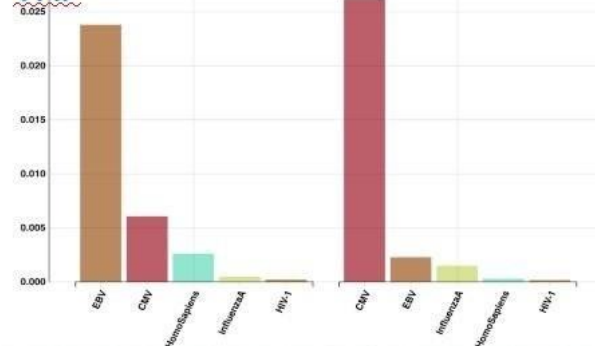


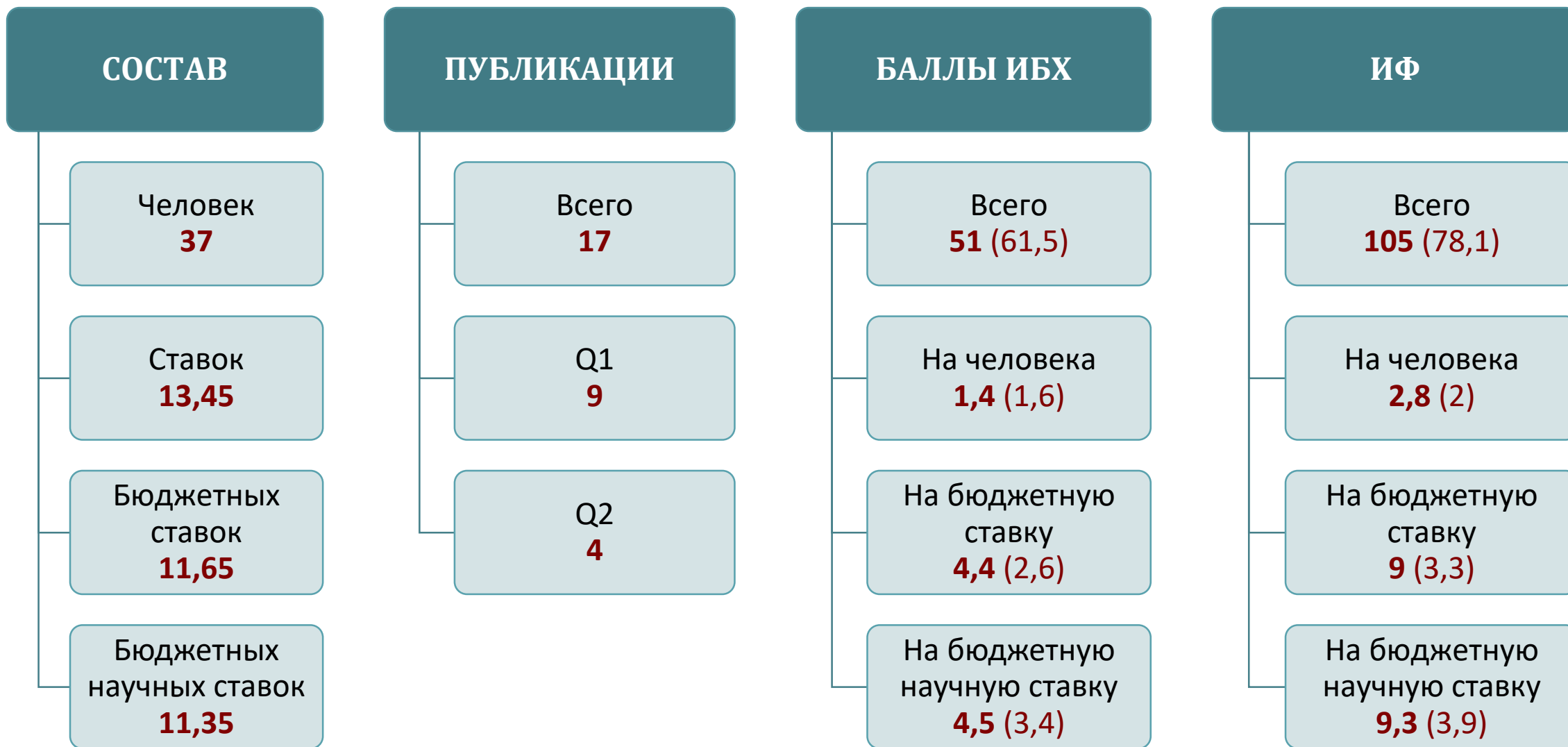
Нами была создана база данных последовательностей Т-клеточных рецепторов (ТКР) с известной антигенной специфичностью VDJdb, а также разработан интуитивный интерфейс для работы с ней и предсказания антигенной специфичности репертуаров ТКР

Bagaeв DV и др. (2019) VDJdb in 2019: database extension, new analysis infrastructure and a T-cell receptor motif compendium. *Nucleic Acids Res (ИФ 11.147)*



Аннотация образов секвенирования репертуаров ТКР







ОТДЕЛ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВЫХ СИСТЕМ (рук. академик О.А. Донцова)

ИФ 67,4

- **Лаборатория молекулярной онкологии**
О.А. Донцова

ИФ 32,8

- **Лаборатория молекулярного дизайна и синтеза**
В.А. Коршун

ИФ 4,2

- **Лаборатория механизмов генной экспрессии**
Г.В. Шпаковский

ИФ 3,1

- **Лаборатория функциональной организации клеточного ядра**
О.В. Зацепина

ИФ 18

- **Лаборатория мембранных и биоэнергетических систем**
М.И. Шапаронов

ИФ 8,3

- **Лаборатория микрофлюидных технологий для биомедицины**
А.Г. Тоневицкий

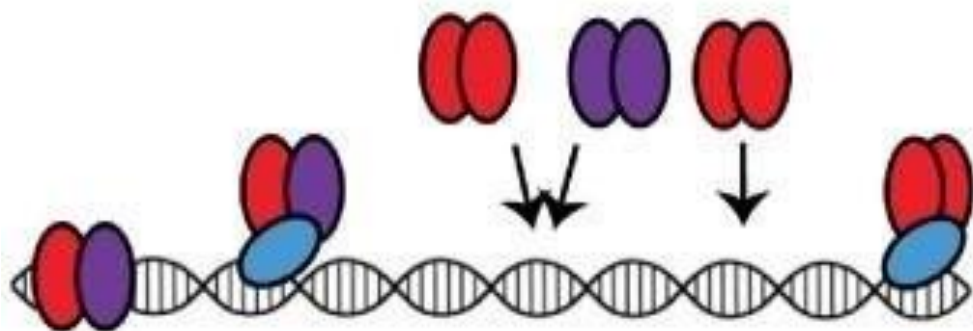
ИФ 15,8

- **Группа молекулярных инструментов для исследования живых систем систем**
А.В. Аралов

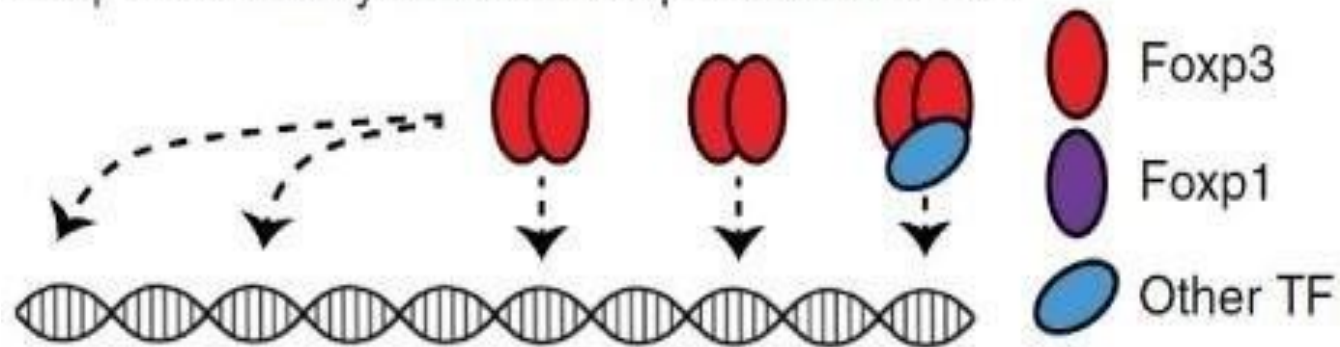
ИФ 16,4

- **Группа электронной микроскопии**
Е.А. Образцова

Possible means of Foxp1 and Foxp3 binding



Foxp1 deficiency leads to Foxp3 redistribution

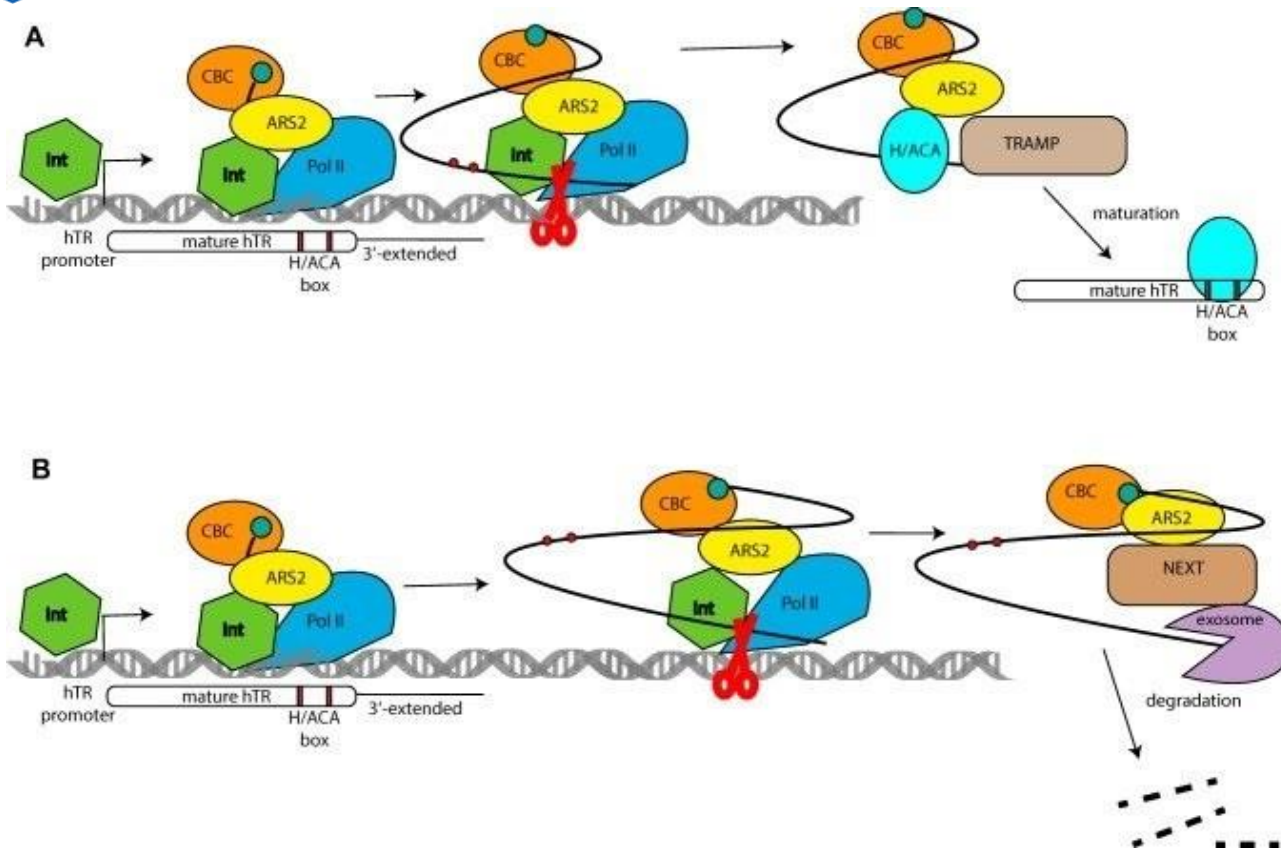


Регуляторные Т-клетки (Трег) – это субпопуляция Т-хелперов, обладающих иммуносупрессорными свойствами. Трег необходимы для защиты организма от избыточного иммунного ответа и подавления аутоиммунитета. Уникальные функции Трег определяет фактор транскрипции Foxp3, который контролирует Трег-специфическую экспрессию генов.

Сотрудник Отдела функционирования живых систем к.х.н. Ю.П. Рубцов совместно с коллегами из Мемориального онкологического центра им. Слоуна-Кеттеринга, исследовал функции родственного Foxp3 белка, Foxp1, в Трег. Отсутствие Foxp1 изменяет связывание Foxp3 с хроматином, понижая чувствительность дефектных Трег к IL-2 и способность к иммуносупрессии.

Конораски С и др. (2019) Transcription factor Foxp1 regulates Foxp3 chromatin binding and coordinates regulatory T cell function. *Nat Immunol* (ИФ 23.53)

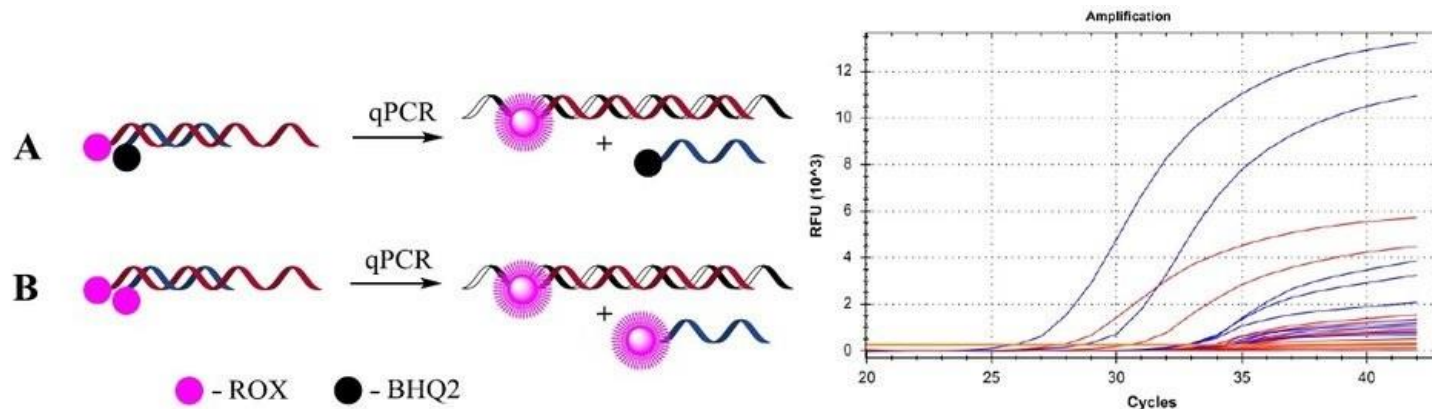
ИНТЕГРАТОР – ЭТО КЛЮЧЕВОЙ КОМПОНЕНТ БИОГЕНЕЗА ТЕЛОМЕРАЗНОЙ РНК



Теломеры представляют собой особые ДНК-белковые структуры, которые расположены на концах линейных эукариотических хромосом. Длина теломер определяет потенциал пролиферации клеток. Теломераза является ключевым компонентом системы поддержания длины теломер. Хотя теломераза неактивна в большинстве соматических клеток, ее активность определяет клоногенный потенциал стволовых клеток как ресурса регенерации тканей и организма. Реактивация теломеразы происходит в процессе иммортализации в большинстве раковых клеток. Теломераза представляет собой рибонуклеопротеин, который содержит компоненты обратной транскриптазы теломеразы и РНК. Механизм процессинга РНК теломеразы включает обрезку экзосом или деградацию первичного предшественника. Последние данные свидетельствуют о том, что конкуренция между процессингом и распадом теломеразной РНК может регулировать количество этой РНК на физиологическом уровне. Мы показали, что прекращение транскрипции РНК теломеразы человека зависит от типа промотора, который взаимодействует с мультисубъединичным комплексом Integrator для взаимодействия с РНК-полимеразой II и прекращения транскрипции гена РНК теломеразы человека.

Rubtsova MP и др. (2019) Integrator is a key component of human telomerase RNA biogenesis. *Sci Rep* (ИФ 4.011)

Коноракси С и др. (2019) Transcription factor Foxp1 regulates Foxp3 chromatin binding and coordinates regulatory T cell function. *Nat Immunol* (ИФ 23.53)



Left: principle of Yin-Yang light-up qPCR probes: (A) dye-quencher probe; (B) dye-dye probe;
 Right: fluorescence enhancement in the course of PCR, ROX-ROX probes (blue) vs ROX-BHQ2 probes (red); HIV-1 RNA copies mL⁻¹: 10000, 1000, 500, 250, 125.

Флуорогенные олигонуклеотидные зонды широко используются в количественной ПЦР для диагностики патогенов. Обычно зонды содержат флуорофор и тушитель флуоресценции, например, в варианте инь-янь (рисунок, А). Мы синтезировали модельные ДНК-шпильки с двойным мечением идентичными красителями (R6G, ROX и Cy5) по 5' и 3'-терминальным положениям и обнаружили, что экситонное тушение флуоресценции гомодимера позволяет использовать такие пары красителей в гомогенном анализе. Инь-янь зонды с двумя идентичными красителями (рисунок, В) превосходили эти же зонды в варианте краситель-тушитель, а также продемонстрировали повышенную чувствительность (предел детекции 10 и 30 копий/мл, соответственно) обнаружения низкокопийной РНК ВИЧ по сравнению с использованием коммерческого набора Abbott RealTime HIV-1 на основе красителей VIC- BHQ. Тестирование проводилось как на модельных смесях (плазма крови с добавлением дезактивированного вируса ВИЧ-1), так и на 36 подтвержденных клинических образцах (на низкокопийных образцах выявлено 4 положительных результата присутствия ВИЧ РНК по сравнению с 1 выявленным с помощью набора Abbott). Исследование выполнено в сотрудничестве с коллегами из других институтов (Сколтех, Институт эпидемиологии и др.).

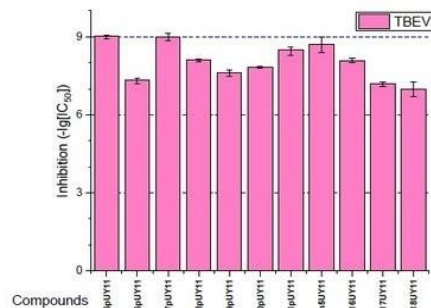
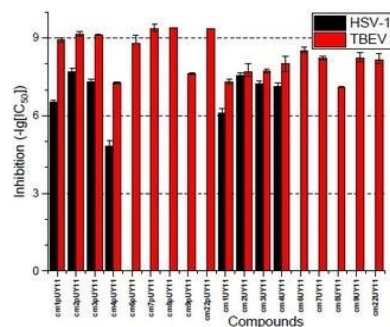
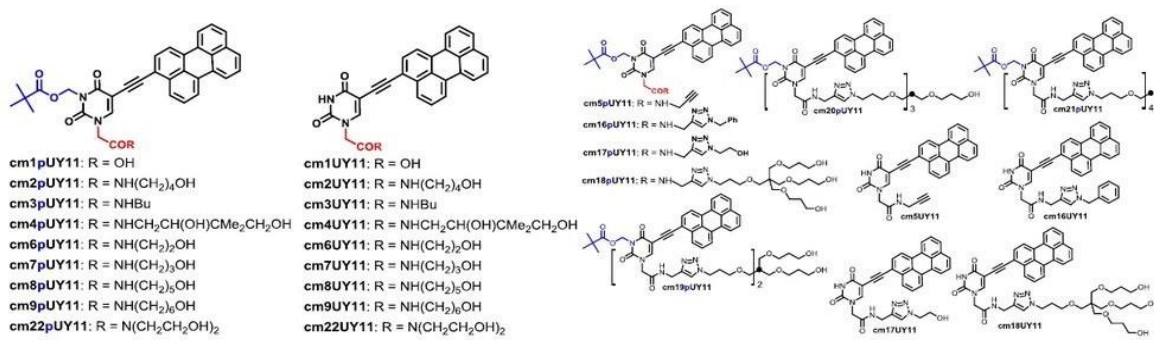
Kireev DE и др. (2020) RT-qPCR Detection of Low-Copy HIV RNA with Yin-Yang Probes. *Methods Mol Biol* (КНИГА)

Farzan VM и др. (2019) Novel homo Yin-Yang probes improve sensitivity in RT-qPCR detection of low copy HIV RNA. *Talanta* (ИФ 4.916)

ПРОТИВОВИРУСНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ НА ОСНОВЕ 5-(ПЕРИЛЕН-3-ИЛЭТИНИЛ)УРАЦИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ

Жесткие амфипатического ингибиторы слияния (RAFI) являются мощными противовирусными препаратами на основе периленового фрагмента, связанного с нуклеозидным остатком. Синтез безуглеводных аналогов RAFI, 5-(перилен-3-илэтинил)урацил-1-уксусной кислоты и ее амидов, проводился с использованием стратегии комбинации защитных групп.

- Соединения обладают низкой токсичностью для клеток PEK и RD, а также проявляют высокую активность против вируса клещевого энцефалита (TBEV): значения EC50 варьируются от 0,077 мкМ до субнаномолярных. Примечательно, что 3-пivaloилоксиметил (Pom) защищенные промежуточные вещества проявляли еще более ярко выраженную активность. Пропаргиламид 3-Pom-5-(перилен-3-илэтинил)урацил-1-уксусной кислоты в качестве универсального предшественника использовался в реакции циклоприсоединения алкинов и азидов (CuAAC) для синтеза нескольких производных, включая три разветвленные молекулы.
- Для сборки молекул, содержащих 2...4 противовирусных 5-(перилен-3-илэтинил)урацильных остатков (первых поливалентных периленовых противовирусных препаратов) применялись полиазиды на основе пентаэритрита.



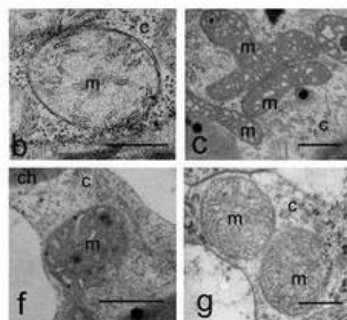
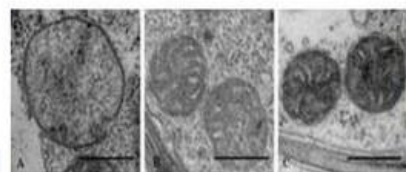
- Четыре синтезированных соединения, включая разветвленный кластер, показали хорошие значения EC50 (1...3 нМ) против TBEV в клеточной культуре.
- Полученные результаты свидетельствуют о том, что углеводный остаток в нуклеозидах RAFI не играет решающей роли в их противовирусном действии, а биологическая активность 5-(перилен-3-илэтинил)урацилового фармакофорного скаффолда может быть эффективно модулирована заместителями в положениях 1 и 3. Высокая противовирусная активность новых соединений в сочетании с низкой токсичностью свидетельствуют об их потенциальной применимости для противовирусной терапии. Тестирование противовирусных свойств веществ проводилось в Институте полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.В. Чумакова.

Sapozhnikova KA и др. (2019) Ramified derivatives of 5-(perylene-3-ylethynyl)uracil-1-acetic acid and their antiviral properties. *RSC Adv* (ИФ 3.049)

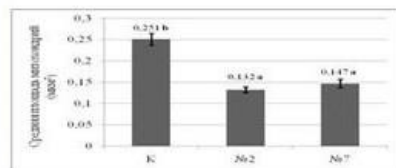
Chistov AA и др. (2019) Compounds based on 5-(perylene-3-ylethynyl)uracil scaffold: High activity against tick-borne encephalitis virus and non-specific activity against enterovirus A. *Eur J Med Chem* (ИФ 4.833)

ЗАЩИТНЫЕ ФУНКЦИИ ПРОГЕСТЕРОНОВОЙ СИСТЕМЫ ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

Табак
(*Nt*)



Экстракт листьев растений	Количество проросших спор <i>Botrytis cinerea</i> , %	Количество проросших спор <i>Botrytis cinerea</i> , %
Контрольные дикого типа (<i>Nt</i> -WT)	10 ± 4	90 ± 6
Контрольные с пустым вектором (TR <i>Nt</i> -Vector)	15 ± 6	85 ± 8
Трансгенные по <i>CYP11A1</i> (TR <i>Nt</i> - <i>CYP11A1</i>)	86 ± 12	14 ± 7



Воздействие NaCl на митохондрии: b – контроль без NaCl; f – трансген без NaCl; c – контроль в присутствии NaCl; g – трансген в присутствии NaCl;

Установлено, что одной из важнейших функций сохранившейся в растениях наряду с brassinостероидной более древней прогестероновой системы стероидной гормональной регуляции является защита от биотических и абиотических стрессов. Вдобавок к ранее отмеченной нами защите трансгенных по *CYP11A1* растений табака от патогенного грибка *Botrytis cinerea*, в 2019 году нами показано, что экспрессия кДНК *CYP11A1* цитохрома P450sc в трансгенных растениях томата повышает их устойчивость к широкому спектру биотических стрессовых факторов: не только к инфекции *Botrytis cinerea*, но и к таким фитопатогенам, как *Alternaria* spp., *Oidium neolycopersici* и *Cladosporium fulvum*.

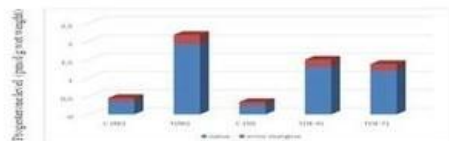
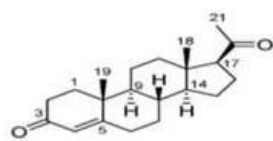
Растения линии №7 в поколениях T1-T3 практически не проявляли признаков поражения всеми упомянутыми выше патогенами: вегетативные органы растений оставались интенсивно зелеными до конца вегетационного периода, который прекращался лишь с наступлением заморозков.

Повышенный синтез эндогенного прогестерона повышает устойчивость растений семейства Solanaceae (томат, табак) и к абиотическим стрессам (засуха, засоление).

Обнаружено явление направленной защиты митохондрий клеток мезофила листьев трансгенных растений табака при солевом стрессе.

Устойчивость к многим фитопатогенам

Образец томата	Возбудители заболеваний			
	<i>Cladosporium fulvum</i> (Кладоспориоз)	<i>Oidium neolycopersici</i> (Мучнистая роса)	<i>Botrytis cinerea</i> (Серая гниль)	<i>Alternaria</i> spp. (Альтернариоз)
Рекордсмен (WT)	восприимчив	восприимчив	средне-восприимчив	средне-восприимчив
Линия №4-32	слабо-восприимчив	сильно-восприимчив	восприимчив	восприимчив
Линия №4-36	устойчив	восприимчив	средне-восприимчив	восприимчив
Линия №7-4	устойчив	устойчив	слабо-восприимчив	слабо-восприимчив
Линия №7-27	устойчив	устойчив	устойчив	слабо-восприимчив



Изменения в митохондриях

Томат
(*Sf*)



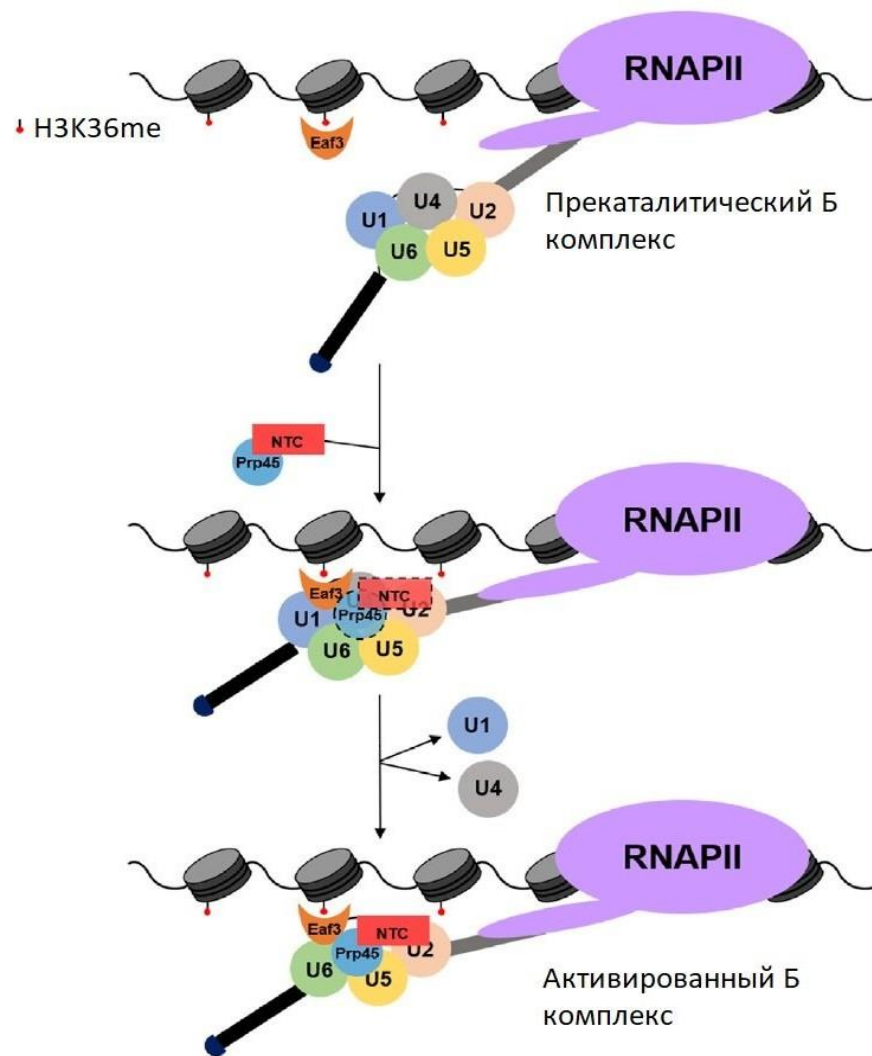
Поражение растений томата серой гнилью (1 – Линия 7-27, 2 – Линия – 4-32, 3 – Рекордсмен)

Развитие мучнистой росы на листьях растений томата (1 – Линия 7-27, 2 – Линия – 4-32, 3 – Рекордсмен)

Публикации: Proc. Latvian Acad. Sci., Section B., Vol. 72, No. 6 (717), pp. 334-340 (2018) DOI: 10.2478/prolas-2018-0048;
Proc. Latvian Acad. Sci., Section B., Vol. 73, No. 6 (723), pp. 478-486 (2019) DOI: 10.2478/prolas-2019-0074; BMC Plant Biology, v. 20 (in press).

Proshkin S.A. et al. (2019) The Human Isoform of RNA Polymerase II Subunit hRPB11bα Specifically Interacts with Transcription Factor ATF4 . *International Journal of Molecular Science* (ИФ 4.183)

Shematorova E.K. et al. (2019) Novel interactions of adrenodoxin-related [2FE-2S] plant ferredoxins MFDX1 and MFDX2 indicate their involvement in a wide spectrum of functions in plant mitochondria. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B* (ИФ 0)

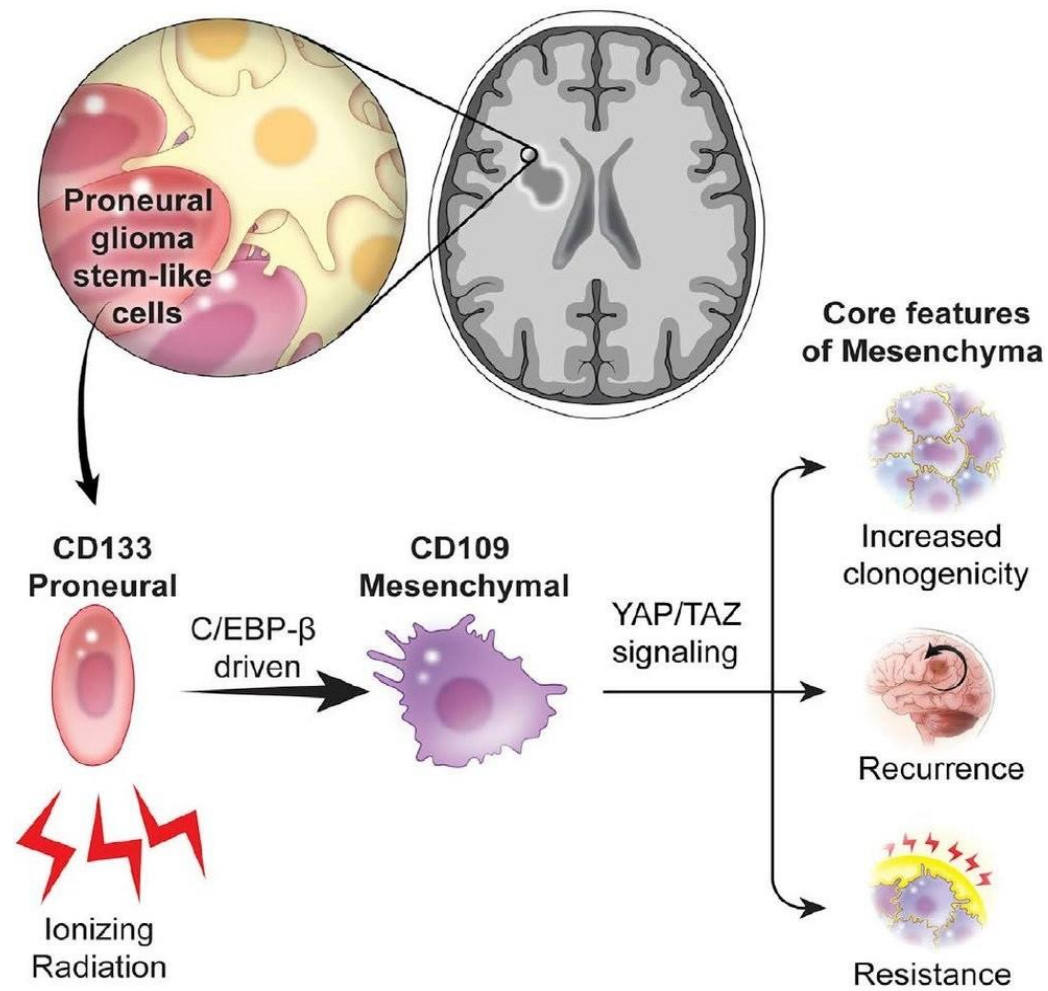


Группой учёных из Лаборатории мембранных биоэнергетических систем ИБХ РАН совместно с коллегами из Университета Калифорнии в Лос-Анжелесе (UCLA, США) был описан молекулярный механизм, связывающий транскрипцию и сплайсинг пре-мРНК.

- ❑ При интенсивной экспрессии гена факторы, находящиеся на РНК полимеразе II, метилируют гистон 3 по лизину 36 (H3K36me) в области элонгации транскрипта. Согласно нашим данным, нуклеосомы с модификацией H3K36me образуют комплекс с белком EAF3, который привлекает фактор сплайсинга PRP45.
- ❑ Этот белок в свою очередь способствует активации каталитической функции сплайсосомы.
- ❑ Таким образом, на хроматине интенсивно транскрибирующихся генов постоянно присутствуют факторы-активаторы сплайсинга.
- ❑ Этот механизм повышает эффективность сплайсинга, а также создаёт связь между структурой хроматина и выбором белковых изоформ, кодируемых данным геном.

Leung CS и др. (2019) H3K36 Methylation and the Chromodomain Protein Eaf3 Are Required for Proper Cotranscriptional Spliceosome Assembly. *Cell Rep* (ИФ 7.815)

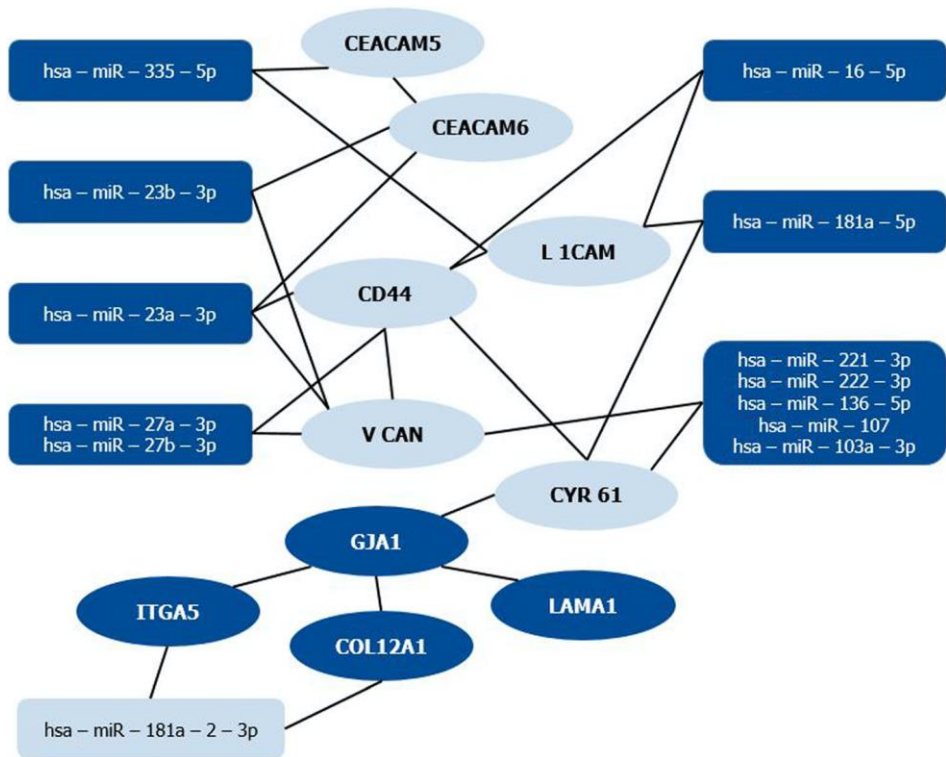
ОПРЕДЕЛЁН НОВЫЙ ТИП СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ



- ❑ Группой учёных из Лаборатории мембранных биоэнергетических систем ИБХ РАН совместно с коллегами из Университета Алабамы в Бирмингеме (UAB, США) было показано, что в глиобластоме существует два типа стволовых опухолевых клеток, способных реинициировать опухоль. Одни из них характеризуются экспрессией поверхностного маркера CD109 и располагаются в центральной части опухоли в районе некротических зон, а вторые имеют маркер CD133 и находятся на периферии опухоли и активно внедряются в нормальный мозг пациента.
- ❑ При хирургическом удалении глиобластомы и последующей радиотерапии происходит превращение оставшихся CD133+/CD109- клеток в CD133-/CD109+ клетки, которые в последствии быстро воссоздают некротический центр опухоли.
- ❑ Нами было показано, что такое превращение регулируется транскрипционным фактором C/EBPβ, который начинает экспрессироваться уже через 6 часов после обработки клеток глиобластомы γ-излучением.
- ❑ Описанный механизм хорошо объясняет возможные причины быстрого рецидивирования глиобластом после терапии.

Minata M и др. (2019) Phenotypic Plasticity of Invasive Edge Glioma Stem-like Cells in Response to Ionizing Radiation. *Cell Rep* (ИФ 7.815)

РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОФЛЮИДНОЙ ПЛАТФОРМЫ «ОРГАНОИДЫ-НА-ЧИПЕ»



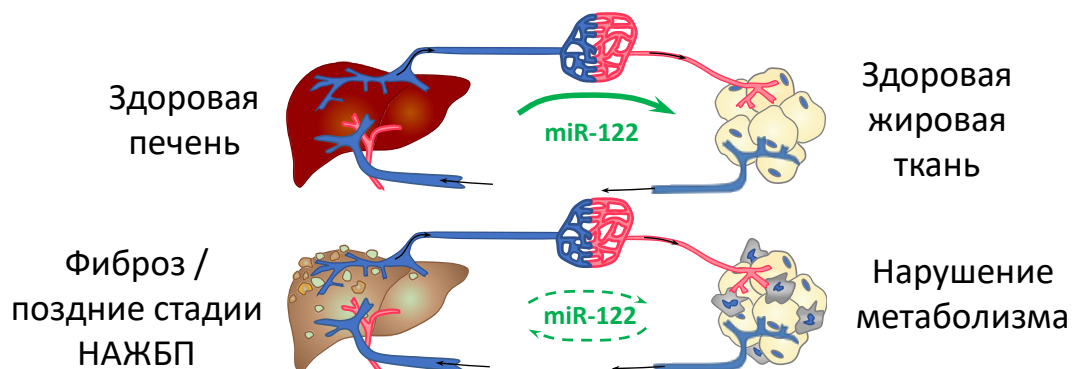
- Продолжена работа над микрофлюидной системой «кишечник-на-чипе». Показана роль циркуляции на экспрессию ключевых молекул адгезии.
- Предложена модель для изучения роли экзосом в межклеточных взаимодействиях.
- Впервые установлена роль miR-122 в развитии неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП).

Sakharov DA, Maltseva DV, ..., Tonevitsky GA (2019) Towards embedding Caco-2 model of gut interface in a microfluidic device to enable multi-organ models for systems biology. *BMC Syst Biol* (ИФ 2.2)

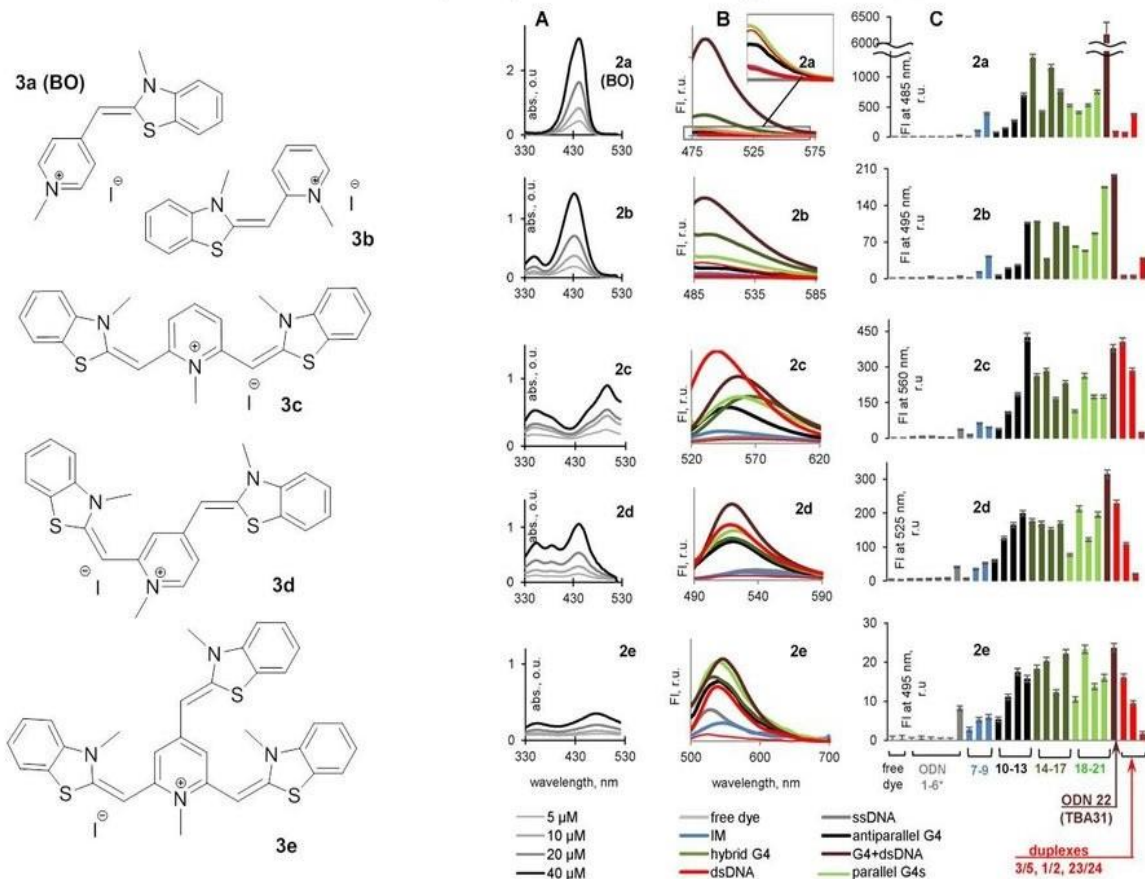
Shkurnikov M, Nikulin S, ..., Tonevitsky A. (2019). LAMA4-regulating miR-4274 and its host gene SORCS2 play a role in IGF1-dependent effects on phenotype of basal-like breast cancer. *Front Mol Biosci* (ИФ 3.6)

Turchinovich A, Drapkina O, Tonevitsky G (2019). Transcriptome of extracellular vesicles: state-of-the-art. *Front Immunol* (ИФ 5.5)

Baranova A, Maltseva DV, ..., Tonevitsky A (2018). Adipose may actively delay progression of NAFLD by releasing tumor-suppressing, anti-fibrotic miR-122 into circulation. *Obes Rev* (ИФ 9.9)



Цианиновые красители на основе бензотиазола – флуоресцентные «разгорающиеся» зонды для детекции дуплексов и квадруплексов ДНК

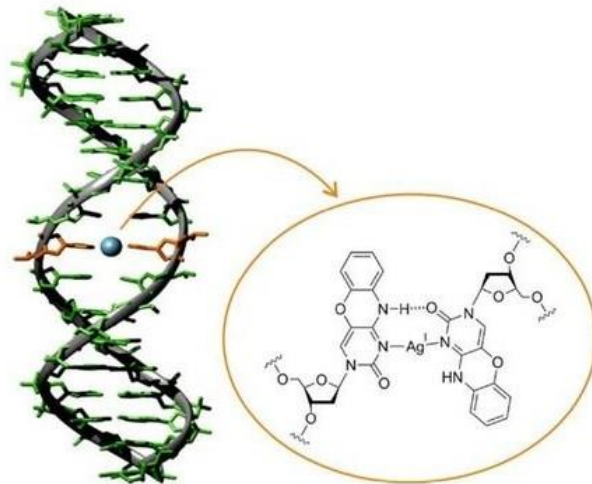
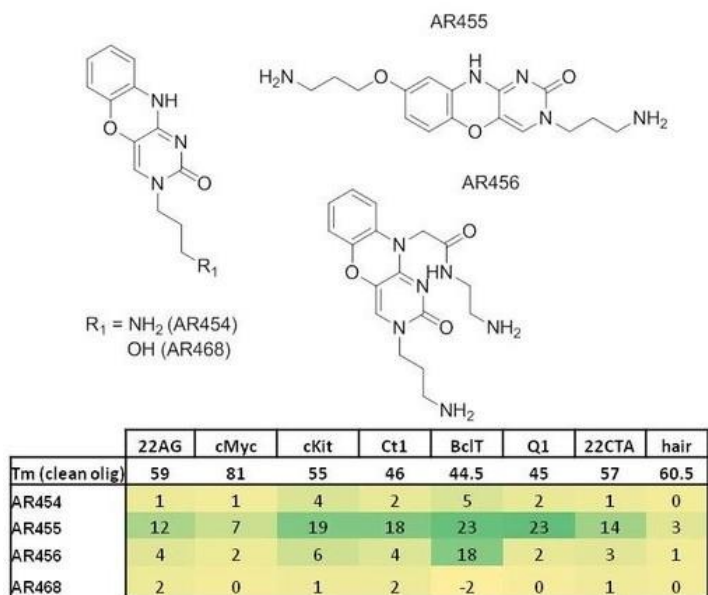


A.V. Turaev, et al. Benzothiazole-based cyanines as fluorescent “light-up” probes for duplex and quadruplex DNA. (2019) BIOCCHIMIE 162, 216-228.

- Получены аналоги бензотиазолового оранжевого (БО) с одним, двумя или тремя метилбензотиазолилметиленовыми заместителями в 1-метилпиридиниевом кольце.
- Проанализированы параметры флуоресценции известных и новых красителей в комплексах с различными структурами ДНК, включая G-квадруплексы (G4) и i-мотивы (IM).
- Все красители эффективно различали G4 и оц-ДНК. Би- и тризамещенные производные имели в основном сходные распределения относительных интенсивностей флуоресценции.
- Монозамещенные производные показали повышенную чувствительность к параллельным G4. Все красители были особенно чувствительны к структуре G4 с дополнительным дуплексным модулем (тромбин-связывающий аптамер ТВА31). В частности, БО показал значительное (160-кратное) увеличение квантового выхода флуоресценции в комплексе с ТВА31 по сравнению со свободным красителем.
- Моно/дизамещенные производные показали свою применимость в качестве зондов для отслеживания образования G4.

Turaev AV и др. (2019) Benzothiazole-based cyanines as fluorescent “light-up” probes for duplex and quadruplex DNA. *Biochimie (ИФ 3.362)*

Молекулярные инструменты для стабилизации неканонических вторичных структур нуклеиновых кислот

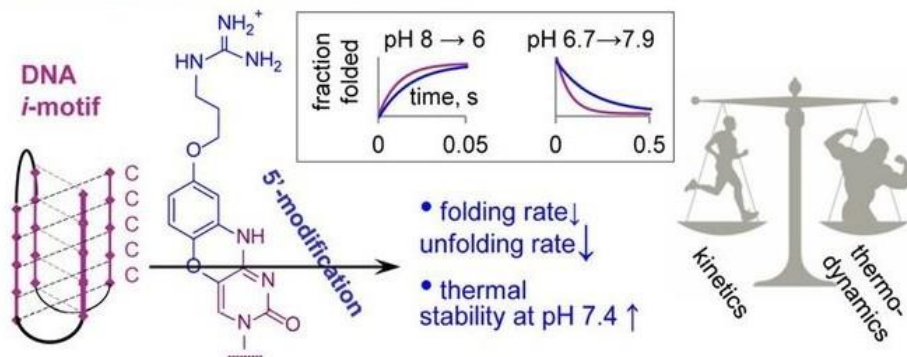


Разработаны лиганды и модификации нуклеиновых оснований для стабилизации неканонических вторичных структур нуклеиновых кислот.

Schönrath I и др. (2019) Silver(I)-mediated base pairing in parallel-stranded DNA involving the luminescent cytosine analog 1,3-diaza-2-oxophenoxazine. *J Biol Inorg Chem* (ИФ 3.632)

Zatsepin TS и др. (2019) Oligonucleotide Primers with G8AE-Clamp Modifications for RT-qPCR Detection of the Low-Copy dsRNA. *Methods Mol Biol* (КНИГА)

Tsvetkov VB и др. (2019) DNA i-Motifs With Guanidino-i-Clamp Residues: The Counterplay Between Kinetics and Thermodynamics and Implications for the Design of pH Sensors. *Comput Struct Biotechnol J* (ИФ 4.72)







ОТДЕЛ МЕТАБОЛИЗМА И РЕДОКС-БИОЛОГИИ (рук. д.б.н. В.В. Белоусов)

ИФ 49,8

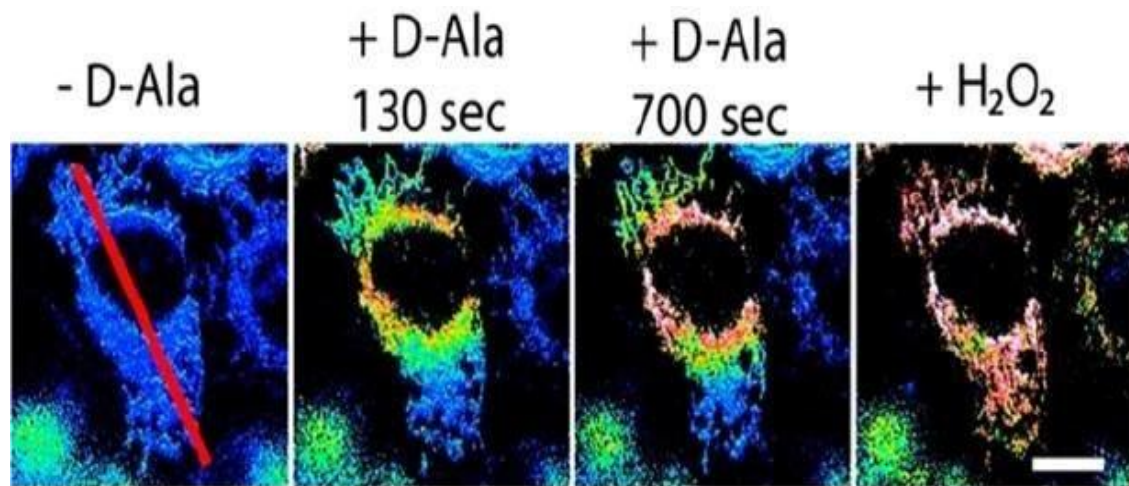
- **Лаборатория молекулярных технологий**
В.В. Белоусов

ИФ 17,8

- **Группа редокс-биологии**
Ю.Г. Ермакова

ИФ 31,4

- **Группа метаболических основ патологии**
Д.С. Билан

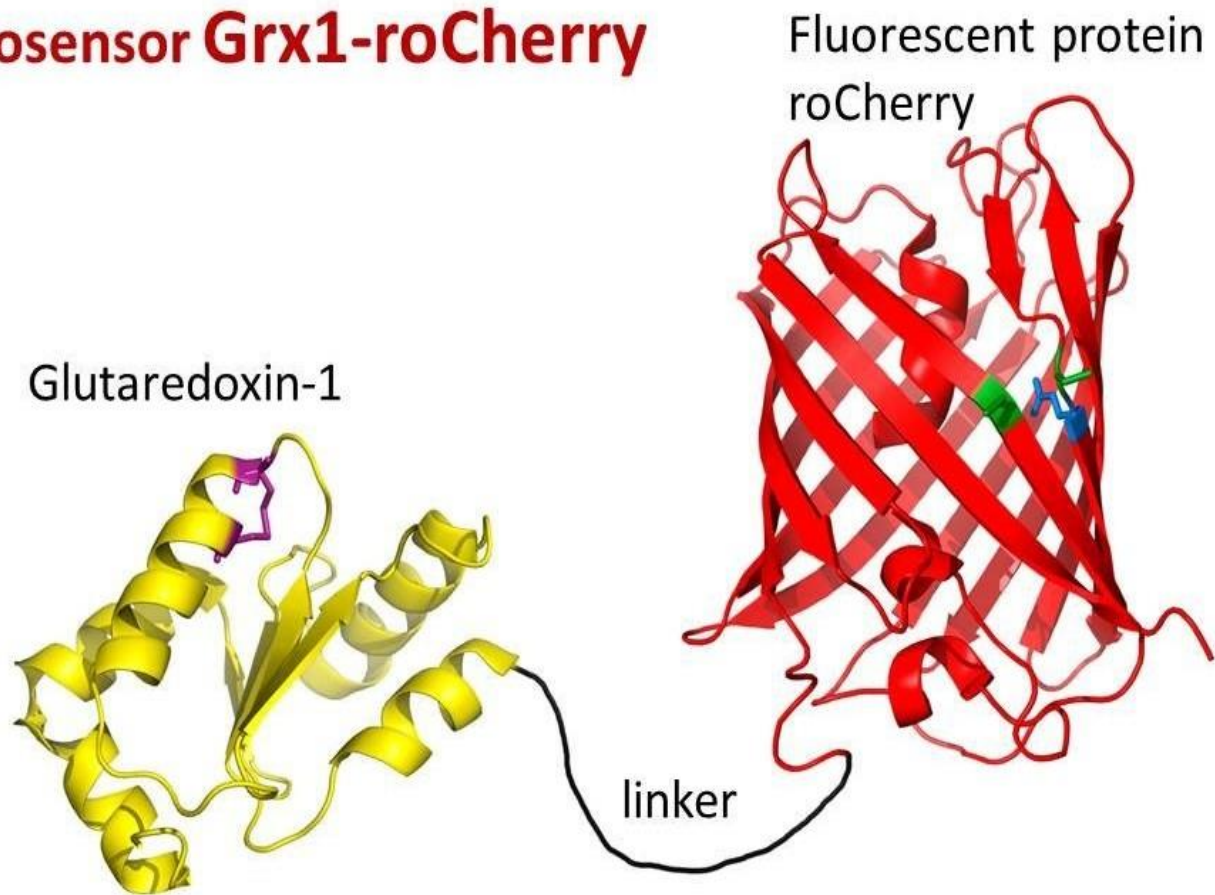


Пероксид водорода образуется под действием ряда ферментов и выполняет сигнальные функции локально в тех компартментах, в которых образуется. Его диффузия внутри клетки ограничена действием антиоксидантных систем. Это способствует возникновению локально повышенных концентраций АФК, достаточных для осуществления регуляторных функций, при этом не вызывающих повреждений. На данный момент не был до конца ясен вклад каждой отдельной антиоксидантной системы в этот процесс. Визуализация работы антиоксидантных систем достаточно сложна: ферменты, генерирующие пероксид водорода, имеют свой паттерн локализации, также как и основные члены антиоксидантных систем, при этом оба паттерна малоизучены.

Для решения этой проблемы в лаборатории Белоусова использовали принципы хемогенетики и синтетической биологии. Фермент оксидаза Д-аминокислот (ДААО), осуществляющий окислительное дезаминирование Д-аминокислот с образованием пероксида водорода в качестве побочного продукта, уже с успехом использовался для контролируемой продукции H_2O_2 в различных типах клеток, а также *in vivo*. С помощью специального пептидного сигнала этот фермент направляли в клеточное ядро, а чувствительный к пероксиду водорода биосенсор HyPer3 - в матрикс митохондрий. Оба компартмента сохраняли свои позиции в клетке на протяжении времени, достаточного для визуализации градиента пероксида водорода. Данный градиент формировался после активации ДААО добавкой Д-аминокислоты в результате действия антиоксидантных систем, препятствовавших диффузии образующегося H_2O_2 . Далее, используя специфичные ингибиторы, было показано, что ключевую роль в ограничении диффузии пероксида водорода в цитоплазме клеток HeLa Kyoto играет тиоредоксиновый путь. При этом одинаково важны оказываются как тиоредоксинредуктазы в цитоплазме, так и в митохондриях. Созданная система позволяет в будущем изучать вклады антиоксидантных ферментов в формирование локального редокс-баланса в различных типах клеток, а также осуществлять простые скрининги веществ, воздействующих на антиоксидантные системы клеток.

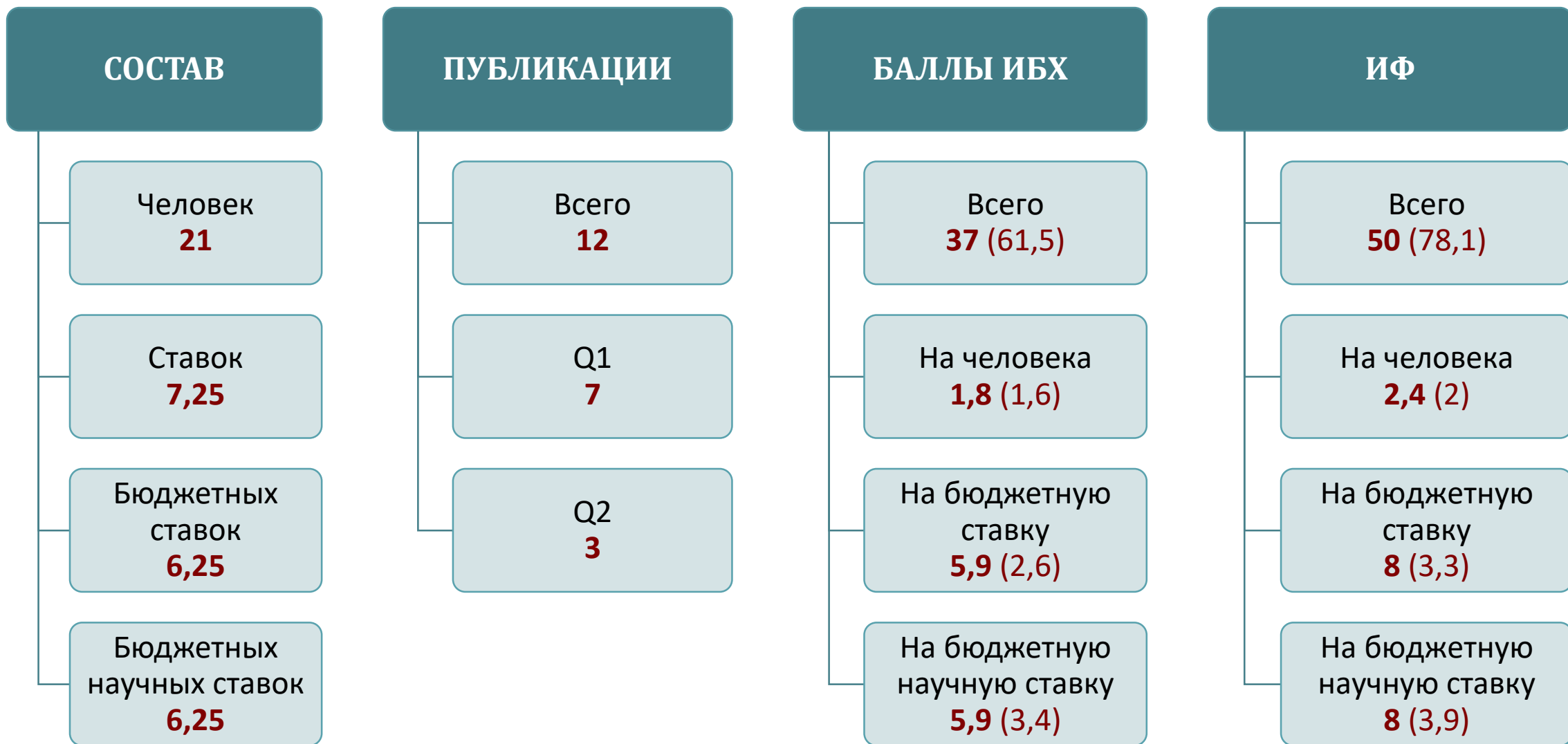
Mishina NM и др. (2019) Which antioxidant system shapes intracellular H_2O_2 gradients? *Antioxid Redox Signal (ИФ 5.828)*

Red fluorescent redox-sensitive biosensor Grx1-roCherry



- ❑ Мы разработали генетически кодируемый биосенсор для регистрации редокс-состояния пула глутатиона (соотношение 2GSH/GSSG) на основе красного флуоресцентного белка mCherry. Структура флуоресцентного белка содержит пару редокс-активных аминокислотных остатков цистеина, которые вовлечены в реакции тиол-дисульфидного обмена внутриклеточных систем. Флуоресцентный сигнал биосенсора отражает редокс-состояние глутатиона в исследуемой системе благодаря спектральному различию окисленной и восстановленной форм белка.
- ❑ Для улучшения кинетических свойств биосенсора в его структуру был добавлен человеческий глутаредоксин-1.
- ❑ Биосенсор Grx1-roCherry является надежным инструментом исследования динамики изменения соотношения 2GSH/GSSG в реальном времени в различных биологических системах, в том числе в комбинации с другими спектрально различающимися версиями в режиме мультипараметрической микроскопии.

Shokhina AG и др. (2018) Red fluorescent redox-sensitive biosensor Grx1-roCherry. *Redox Biol* (ИФ 7.793)





ОТДЕЛ БИОИНЖЕНЕРИИ ФИБХ (рук. академик А.И. Мирошников)

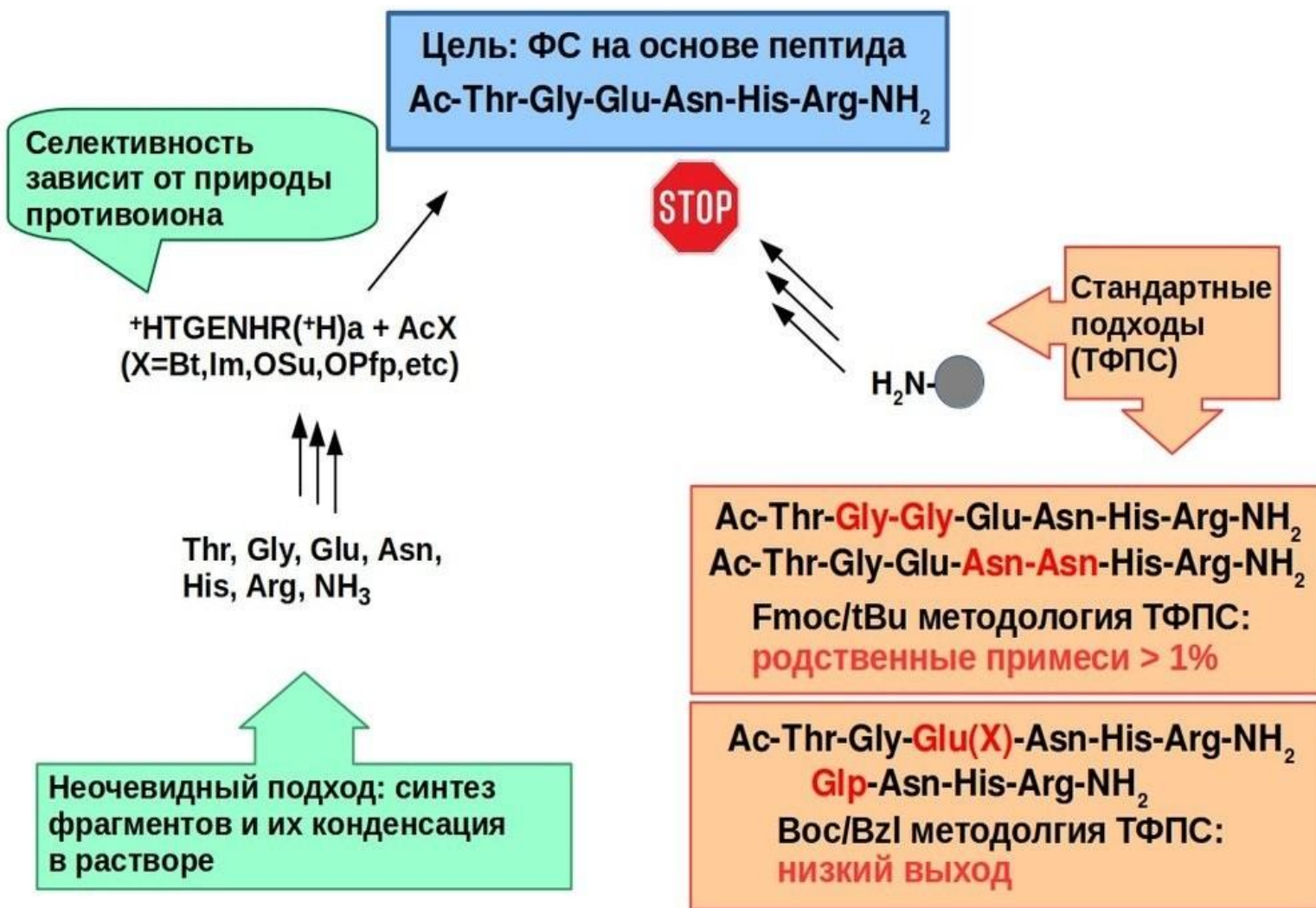
ИФ 0,8

- **Группа химии пептидов**
В.Н. Азев

ИФ 9,4

- **Группа молекулярной биотехнологии**
Г.В. Микулинская

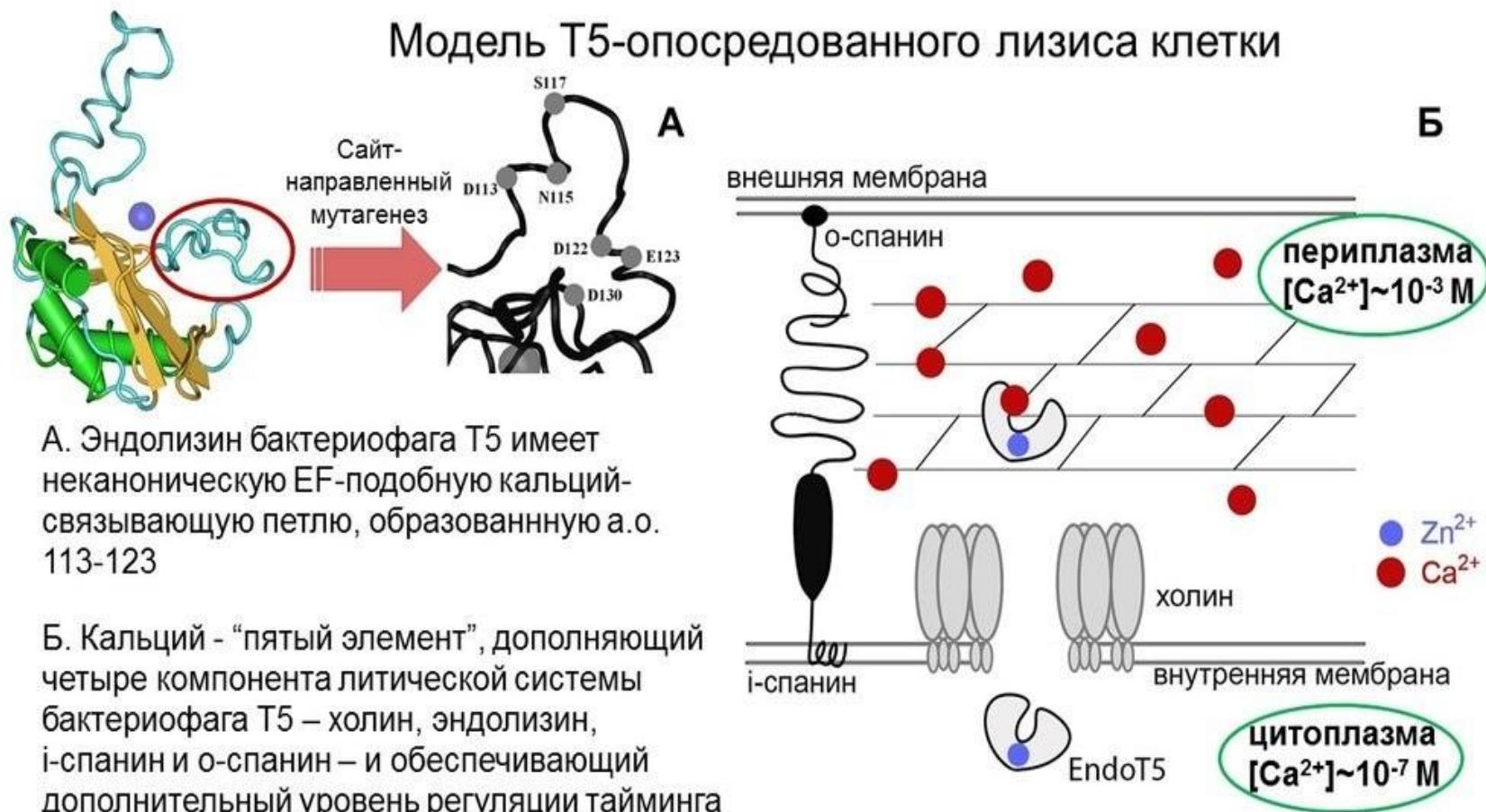
ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ НА ОСНОВЕ N α -АЦЕТИЛ С-КОНЦЕВОЙ АМИДНОЙ ФОРМЫ ПЕПТИДА HLDF-6



Очевидные стандартные подходы в которых реализуются различные твёрдофазные методологии синтеза пептидов приводят либо к образцам ФС, которые не удовлетворяют требованиям ГФ РФ по норме содержания родственных примесей, либо к образцам ФС с низким содержанием целевого продукта.

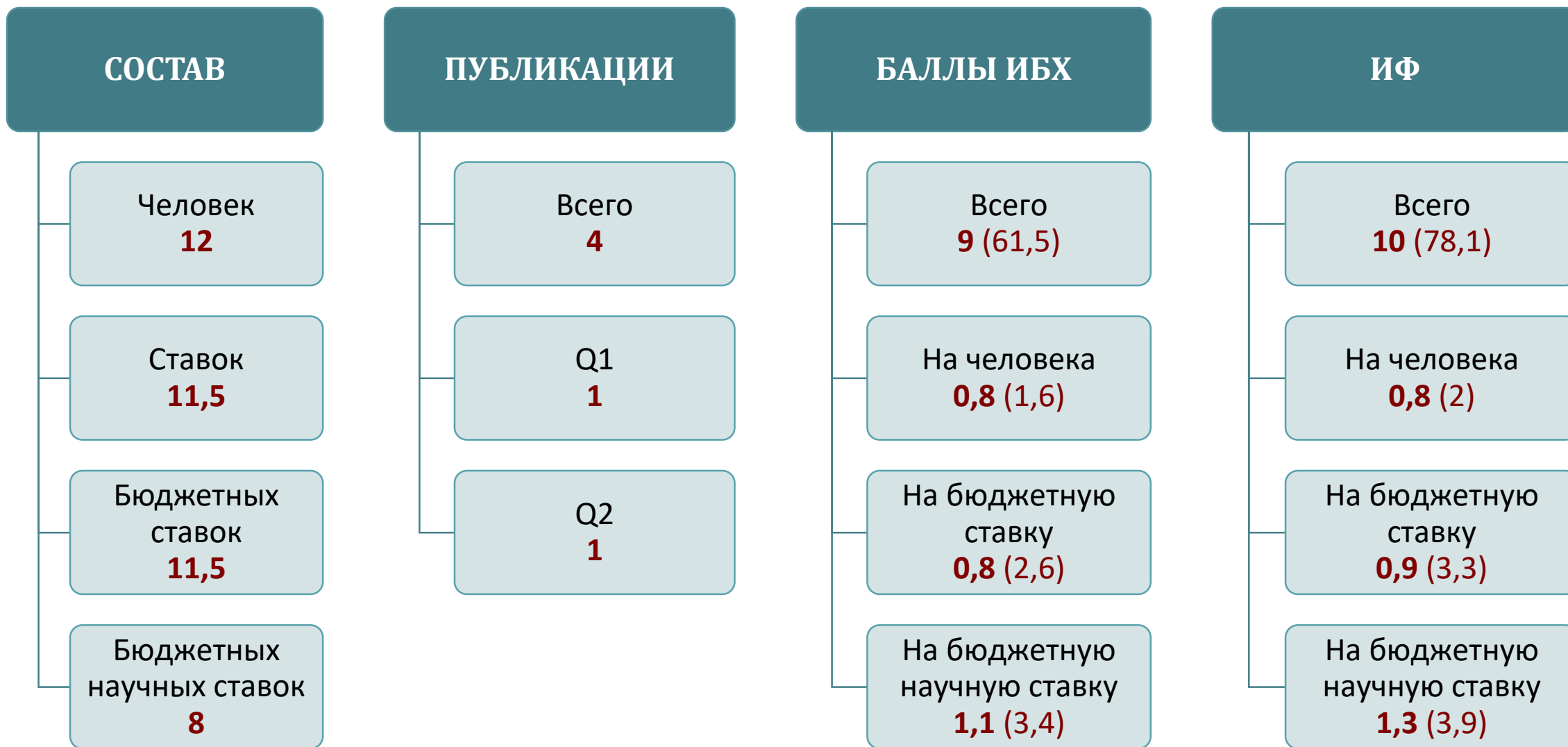
Реализован оптимизированный метод получения образцов ФС в котором амидная форма шестичленного пептида синтезируется методом конденсации фрагментов в растворе и подвергается процессу очистки. Ацетильная группа вводится в пептид с помощью нестандартного превращения в котором активированные эфиры и азолиды уксусной кислоты взаимодействуют с различными солевыми формами слабых органических кислот и амидной формы пептида HLDF-6 в органических растворителях в отсутствие оснований.

Zolotarev YuA и др. (2019) Proteolytic Hydrolysis of the Antitumor Peptide HLDF-6-AA in Blood Plasma. *Russ. J. Bioorganic Chem.* (ИФ 0.794)



- ❑ Изучена кальциевая активация эндолизина бактериофага T5. В структуре фермента с помощью сайт-направленного мутагенеза обнаружена неканоническая EF-подобная кальций-связывающая петля.
- ❑ Предложена модель регуляции фаголизиса бактериальной клетки, учитывающая роль ионов кальция.
- ❑ Выдвинуто предположение, что связывание периплазматического кальция стабилизирует структуру фермента в каталитически активной «открытой» конформации.
- ❑ Это первое исследование роли кальция в регуляции лизиса бактерии бактериофагом.

Kovalenko AO и др. (2019) Investigation of the calcium-induced activation of the bacteriophage T5 peptidoglycan hydrolase promoting host cell lysis. *Metallomics (ИФ 3.571)*





ОТДЕЛ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ (рук. д.б.н. А.Н. Мурашев)

ИФ 22,3

- **Лаборатория биологических испытаний**
И.А. Дьяченко

ИФ 0,8

- **Лаборатория токсикологии *in vitro***
Е.В. Наволоцкая

ИФ 4,5

- **Лаборатория фармакокинетики**
Д.В. Зинченко

Признание Европейским Химическим Агентством результатов неклинических исследований, выполненных в Испытательном центре Отдела биологических испытаний

<https://echa.europa.eu/registrasion-dossier/-/registered-dossier/27743/7/9/2>

<https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/28338/7/9/2>

<https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/13202/1>

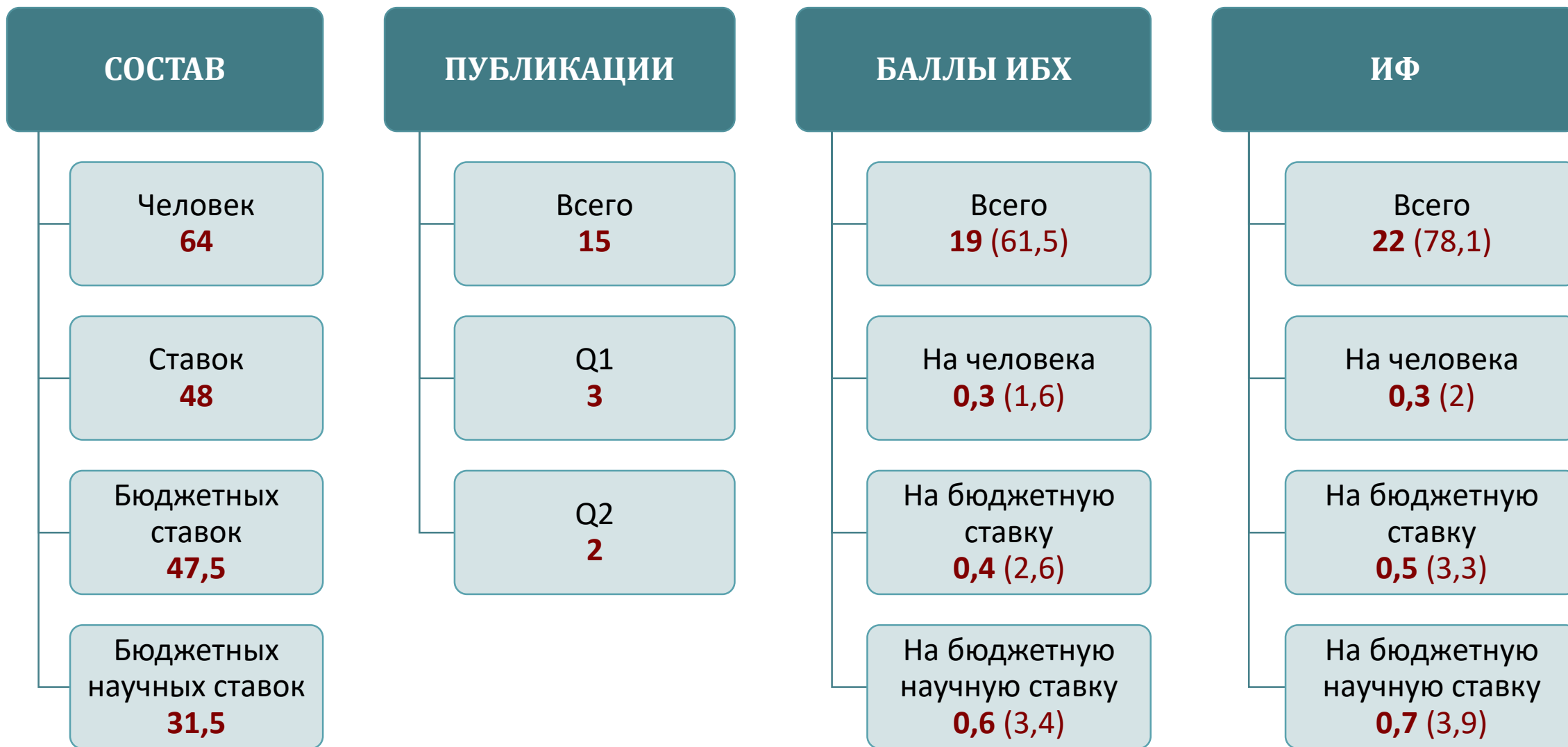


Признание результатов неклинических исследований - инструмент международной кооперации и экспорта



На базе отдела биологических испытаний создан Испытательный центр, который выполняет неклинические исследования в соответствии с Принципами надлежащей лабораторной практики (GLP) и руководствами Организации экономического сотрудничества и развития (OECD).

Результаты неклинических исследований, выполненных в этом центре, размещены на сайте Европейского Химического Агенства, что указывает на то, что он отвечает критериям международной системы взаимного признания результатов неклинических исследований (OECD Mutual Acceptance of Data (MAD) system).





ОТДЕЛЬНЫЕ ЛАБОРАТОРИИ

ИФ 30,7

- **Отдел «Учебно-научный центр»**
Т.В. Овчинникова

ИФ 21,1

- **Лаборатория биотехнологии**
А.И. Мирошников

ИФ 25,3

- **Лаборатория биоинформационных методов комбинаторной химии и биологии** П.В. Баранов

ИФ 7,2

- **Группа кросс-сшивающих ферментов**

ИФ 0

- **НПП технологии синтеза нуклеиновых кислот и их компонентов**
С.А. Феофанов

ИФ 6,4

- **НПП «Питомник лабораторных животных»**
Г.Б. Телегин

Новые антимикробные пептиды из лейкоцитов козы *Capra hircus*

Отдел «Учебно-научный центр», зав. отд. д.х.н. Т.В. Овчинникова

frontiers
in Microbiology

Combined Antibacterial Effects of Goat Cathelicidins With Different Mechanisms of Action

Pavel V. Panteleev¹, Iliia A. Bolosov¹, Alexander A. Kalashnikov¹, Vladimir N. Kokryakov¹, Olga V. Shamova¹, Anna A. Emelianova¹, Sergey V. Balandin¹ and Tatiana V. Ovchinnikova^{1*}

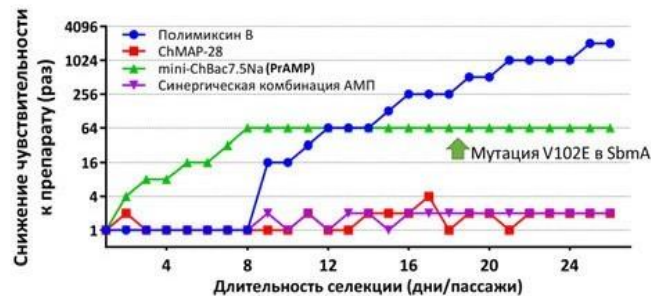
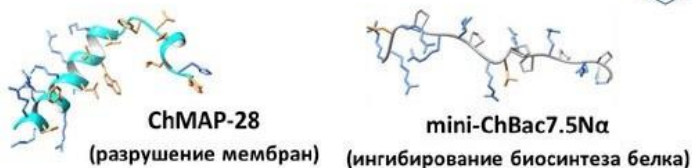
¹M.M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Biorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, ²Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

frontiers
in Pharmacology

Anticancer Activity of the Goat Antimicrobial Peptide ChMAP-28

Anna A. Emelianova¹, Denis V. Kuzmin¹, Pavel V. Panteleev¹, Maxim Sorokin², Anton A. Buzdin^{1,3} and Tatiana V. Ovchinnikova^{1,2*}

¹M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Biorganic Chemistry, The Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, ²Department of Bioinformatics and Molecular Networks, OmicsWay Corporation, Walnut, CA, United States, ³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia



- На примере защитных кателицидинов козы *Capra hircus* показано выраженное синергическое действие в отношении мультирезистентных бактерий.
- Присутствие ChMAP-28 препятствует возникновению устойчивости к пролин-богатым антимикробным пептидам, действующим на рибосому.
- Показана выраженная противоопухолевая активность ChMAP-28 и предположен молекулярный механизм действия пептида.
- По результатам исследования опубликованы 2 статьи в журналах Q1 и получен патент РФ.



В рамках работы по изучению антимикробных пептидов (АМП) животных, проводимой в Учебно-научном центре ИБХ РАН, были изучены биологические свойства новых защитных пептидов из лейкоцитов козы *Capra hircus* – α-спиральный пептид ChMAP-28 и пролин-богатый пептид mini-ChBac7.5Nα.

- В ходе работы были получены рекомбинантные аналоги природных АМП и изучен молекулярный механизм их действия.
- Показано выраженное синергическое действие защитных пептидов козы *Capra hircus* в отношении мультирезистентных бактерий.
- Присутствие ChMAP-28 препятствует возникновению устойчивости к пролин-богатым антимикробным пептидам, действующим на рибосому.
- Показана выраженная активность ChMAP-28 в отношении раковых клеток и предположен молекулярный механизм противоопухолевого действия пептида.
- По результатам исследования опубликованы две статьи в журналах Q1 и получен патент РФ.

Emelianova AA и др. (2018) Anticancer Activity of the Goat Antimicrobial Peptide ChMAP-28. *Front Pharmacol* (ИФ 3.845)

Panteleev PV и др. (2018) Combined antibacterial effects of goat cathelicidins with different mechanisms of action. *Front Microbiol* (ИФ 4.259)

НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН

Основные достижения за 2019 год



Получено второе поколение высококатегорированных лабораторных кроликов стока NZW SPF-категории

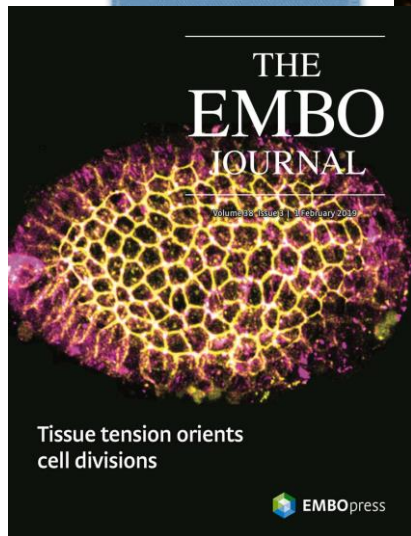
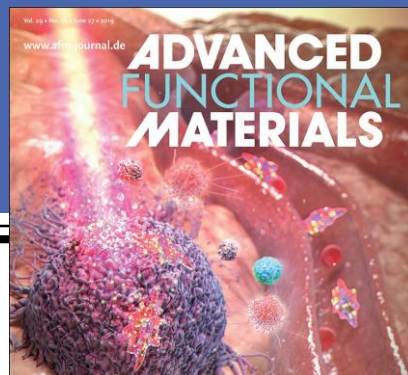


Верифицирована модель травмы спинного мозга у крыс после криоаппликации



Успешно завершён переход системы менеджмента качества производства мелких лабораторных грызунов на требования стандарта ISO 9001:2015

- ❑ Верифицирована модель структурированной прецизионной травмы спинного мозга у крыс SPF-категории.
- ❑ Подготовлена заявка на получение приоритетного права интеллектуальной собственности «Метод моделирования глиального рубца – оригинальное использование криодеструкции глиальных тканей» и «Инструмент для моделирования глиального рубца на спинном мозге крыс – криоаппликатор».
- ❑ Расширен видовой состав коллекции генетических ресурсов ПЛЖ путем получения из питомника лабораторных животных Envigo (Израиль) уникальных для России лабораторных кроликов стока NZW SPF-категории.
- ❑ Система менеджмента производства мелких лабораторных грызунов SPF- категории сертифицирована компанией SGS UK Ltd., как отвечающая требованиям стандарта ISO 9001:2015.



АНАЛИЗ ПУБЛИКАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ



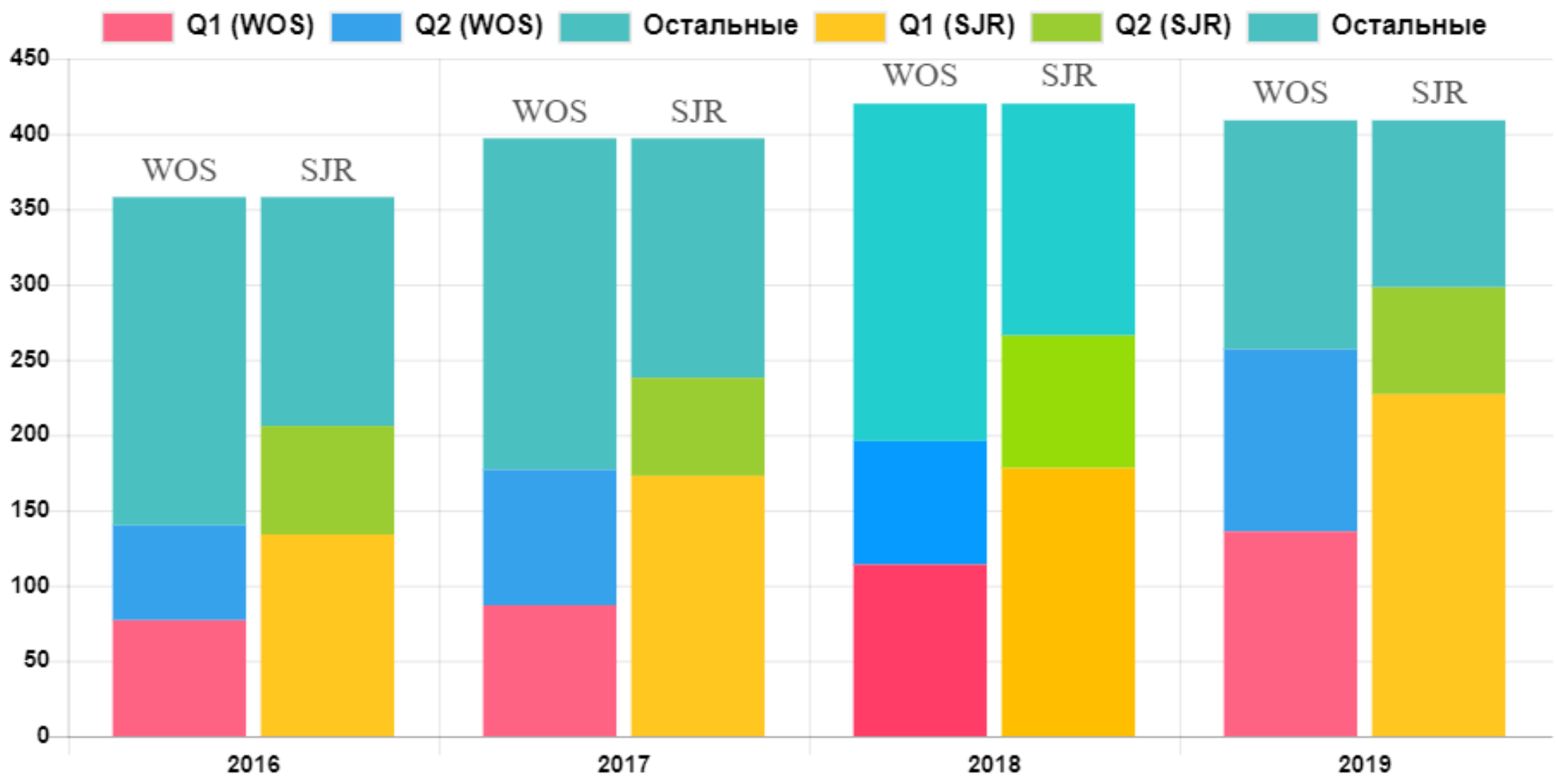
ДИНАМИКА ПУБЛИКАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ИБХ 2016 – 2017 – 2018 – 2019

Год	Общее кол-во статей	В журналах из Q1 по WOS	В журналах из Q1 по SJR	С ИФ>5	С ИФ>9	Сумма ИФ статей
2016	358	77 (22%)	134 (37%)	27 (8%)	13 (4%)	1043
2017	397	87 (22%)	173 (44%)	24 (6%)	13 (3%)	1141
2018	420	114 (27%)	178 (42%)	46 (11%)	24 (6%)	1312
2019	409	136 (33%)	227 (56%)	51 (12%)	15 (4%)	1371

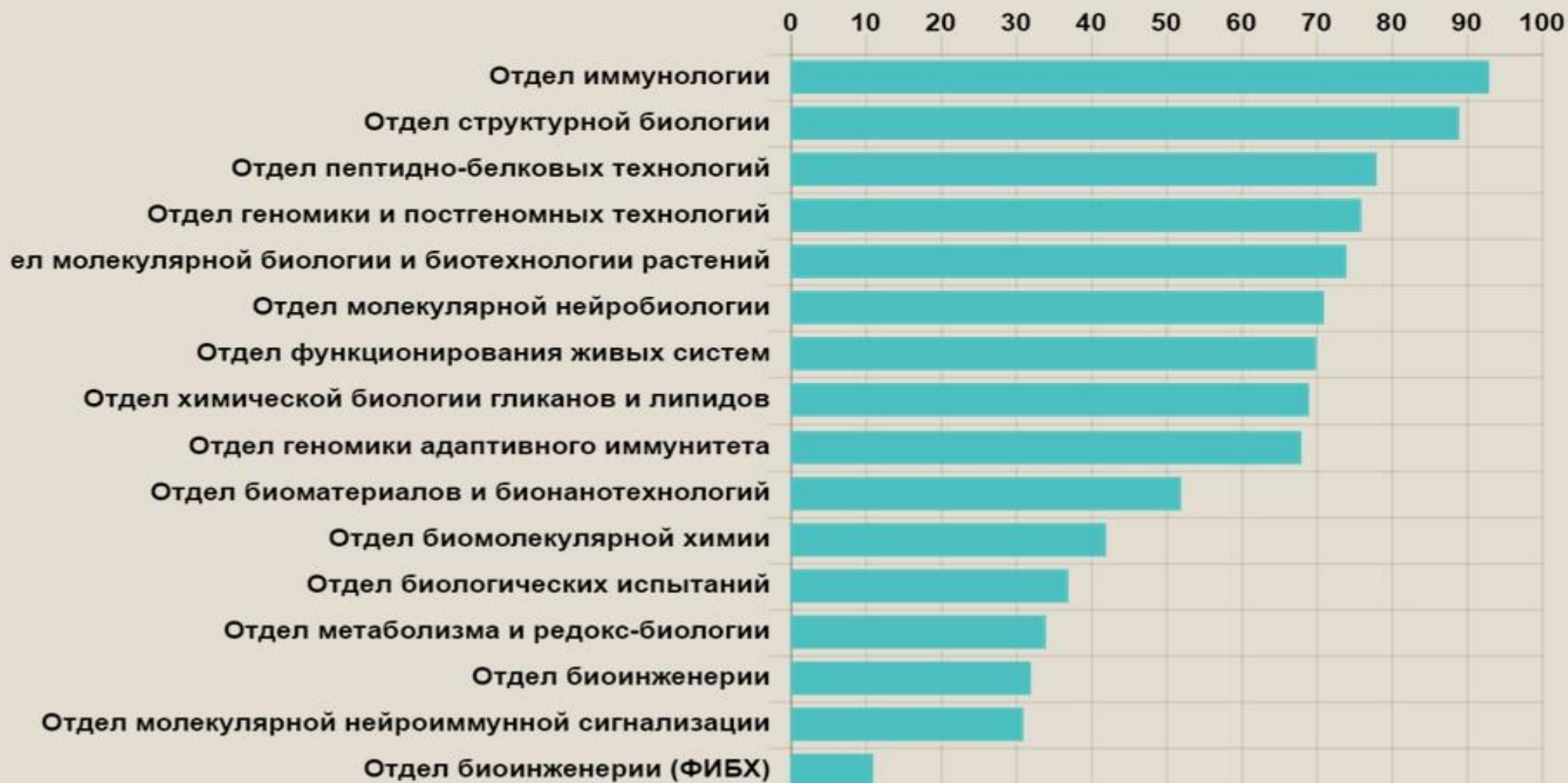
См. диаграмму на следующем слайде



ДИНАМИКА ПУБЛИКАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ИБХ 2016 – 2017 – 2018 – 2019



ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ В 2018 ГОДУ (БАЛЛЫ ИБХ РАН)





ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ ИБХ В 2019 ГОДУ (В БАЛЛАХ ИБХ)





ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ ИБХ В 2019 ГОДУ (СУММАРНЫЙ ИФ)





ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ ИБХ В 2019 ГОДУ (КОЛИЧЕСТВО СТАТЕЙ)





ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ ИБХ В 2019 ГОДУ (БАЛЛЫ ИБХ / КОЛИЧЕСТВО БЮДЖЕТНЫХ НАУЧНЫХ СТАВОК)



ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАБОРАТОРИЙ И ГРУПП ИБХ В 2019 ГОДУ (БАЛЛЫ ИБХ)

Баллы ИБХ (2019)





ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАБОРАТОРИЙ И ГРУПП ИБХ В 2019 ГОДУ (БАЛЛЫ ИБХ) *Продолжение*



1. Konopacki C, Pritykin Y, [Rubtsov Y](#), Leslie CS, Rudensky AY. Transcription factor Foxp1 regulates Foxp3 chromatin binding and coordinates regulatory T cell function. *Nat Immunol* (IF=23.53)
2. Li N, van Unen V, Abdelaal T, Guo N, [Kasatskaya SA](#), Ladell K, McLaren JE, [Egorov ES](#), [Izraelson M](#), Chuva de Sousa Lopes SM, Höllt T, [Britanova OV](#), Eggermont J, de Miranda NFCC, [Chudakov DM](#), Price DA, Lelieveldt BPF, Koning F. Memory CD4 T cells are generated in the human fetal intestine. *Nat Immunol* (IF=23.53)
3. Kabashin AV, Kravets VG, Wu F, Imaizumi S, [Shipunova VO](#), [Deyev SM](#), Grigorenko AN. Phase-Responsive Fourier Nanotransducers for Probing 2D Materials and Functional Interfaces. *Adv Funct Mater* (IF=15.621)
4. Cahen D, Fereiro JA, Kayser B, Romero-Muñiz C, Vilan A, [Dolgikh DA](#), [Chertkova RV](#), Cuevas JC, Zotti LA, Pecht I, Sheves M. Solid-state Protein-based Reversible Biased-induced Tunneling Current Switch. *Angew Chem Int Ed Engl* (IF=12.257)
5. Radzsheuskaya A, Shliaha PV, Grinev V, Lorenzini E, [Kovalchuk S](#), Shlyueva D, Gorshkov V, Hendrickson RC, Jensen ON, Helin K. PRMT5 methylome profiling uncovers a direct link to splicing regulation in acute myeloid leukemia. *Nat Struct Mol Biol* (IF=12.109)
6. Kantidze OL, Luzhin AV, Nizovtseva EV, Safina A, Valieva ME, Golov AK, Velichko AK, Lyubitelev AV, [Feofanov AV](#), Gurova KV, Studitsky VM, Razin SV. The anti-cancer drugs curaxins target spatial genome organization. *Nat Commun* (IF=11.878)

7. Weber J, de la Rosa J, Grove CS, Schick M, Rad L, Baranov O, Strong A, Pfaus A, Friedrich MJ, Engleitner T, Lersch R, Öllinger R, Grau M, Menendez IG, Martella M, Kohlhofer U, Banerjee R, [Turchaninova MA](#), Scherger A, Hoffman GJ, Hess J, Kuhn LB, Ammon T, Kim J, Schneider G, Unger K, Zimmer-Strobl U, Heikenwälder M, Schmidt-Supprian M, Yang F, Saur D, Liu P, Steiger K, [Chudakov DM](#), Lenz G, Quintanilla-Martinez L, Keller U, Vassiliou GS, Cadiñanos J, Bradley A, Rad R. PiggyBac transposon tools for recessive screening identify B-cell lymphoma drivers in mice. *Nat Commun* (IF=11.878)
8. Guerrero-Ferreira RC, Hupfeld M, Nazarov S, Taylor NM, [Shneider MM](#), Obbineni JM, Loessner MJ, Ishikawa T, Klumpp J, Leiman PG. Structure and transformation of bacteriophage A511 baseplate and tail upon infection of cells. *EMBO J* (IF=11.227)
9. [Bagaev DV](#), Vroomans RMA, Samir J, Stervbo U, Rius C, Dolton G, Greenshields-Watson A, Attaf M, [Egorov ES](#), [Zvyagin IV](#), Babel N, Cole DK, Godkin AJ, Sewell AK, Kesmir C, [Chudakov DM](#), Luciani F, [Shugay M](#). VDJdb in 2019: database extension, new analysis infrastructure and a T-cell receptor motif compendium. *Nucleic Acids Res* (IF=11.147)
10. Huang J, [Stepanov A](#), Li J, Jones T, Grande G, Douthit L, Xie J, Chen D, Wu X, Michael M, Xiao C, Zhao J, Xie X, Xie J, Chen X, Fu G, [Gabibov A](#), Tzeng CM (2019). Unique CDR3 epitope targeting by CAR-T cells is a viable approach for treating T-cell malignancies. *Leukemia* (IF=9.944)

11. [Fesenko I](#), Kirov I, [Kniazhev A](#), [Khazigaleeva R](#), Lazarev V, Kharlampieva D, Grafaskaia E, Zgoda V, Butenko I, [Arapidi G](#), [Mamaeva A](#), [Ivanov V](#), [Govorun V](#) (2019). Distinct types of short open reading frames are translated in plant cells. *Genome Res* (IF=9.944)
12. [Buzdin A](#), [Sorokin M](#), [Garazha A](#), Glusker A, Aleshin A, Poddubskaya E, Sekacheva M, Kim E, Gaifullin N, Giese A, Seryakov A, Rumiantsev P, Moshkovskii S, Moiseev A (2019). RNA sequencing for research and diagnostics in clinical oncology. *Semin Cancer Biol* (IF= 9.658)
13. Chugunova A, Loseva E, Mazin P, Mitina A, Navalayeu T, [Bilan D](#), Vishnyakova P, Marey M, Golovina A, Serebryakova M, Pletnev P, Rubtsova M, Mair W, Vanyushkina A, Khaitovich P, [Belousov V](#), Vysokikh M, Sergiev P, [Dontsova O](#) (2019). LINC00116 codes for a mitochondrial peptide linking respiration and lipid metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* (IF=9.58)
14. [Kotlobay AA](#), [Dubinnyi MA](#), [Purtov KV](#), Guglya EB, Rodionova NS, [Petushkov VN](#), [Bolt YV](#), [Kublitski VS](#), [Kaskova ZM](#), [Ziganshin RH](#), Nelyubina YV, Dorovatovskii PV, Eliseev IE, Branchini BR, Bourenkov G, [Ivanov IA](#), Oba Y, [Yampolsky IV](#), [Tsarkova AS](#) (2019). Bioluminescence chemistry of fireworm *Odontosyllis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* (IF=9.58)
15. Wang Y, Peng Y, Zhang B, Zhang X, Li H, Wilson AJ, [Mineev KS](#), Wang X (2019). Targeting trimeric transmembrane domain 5 of oncogenic latent membrane protein 1 using a computationally designed peptide. *Chem Sci* (IF=9.556)

ПУБЛИКАЦИИ ИБХ РАН ЗА 2018 ГОД В ЖУРНАЛАХ С ИМПАКТ-ФАКТОРОМ > 9



	IF	Кол-во статей
NATURE BIOTECHNOLOGY	35.724	1
NATURE METHODS	26.919	1
CANCER CELL	22.844	1
JOURNAL OF HEPATOLOGY	14.911	1
NEURON	14.318	1
NATURE COMMUNICATIONS	12.353	2
NUCLEIC ACIDS RESEARCH	11.561	2
SCIENCE ADVANCES	11.511	3
JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE	10.79	1
SEMINARS IN CANCER BIOLOGY	10.198	1
PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES OF AMERICA	9.504	8

22 статьи
(на момент отчета)
24 статьи
(к маю 2019)



ПУБЛИКАЦИИ ИБХ РАН ЗА 2019 ГОД В ЖУРНАЛАХ с ИФ>9 (15 СТАТЕЙ)

	IF	Кол-во статей
NATURE IMMUNOLOGY	23.53	2
ADVANCED MATERIALS FOR OPTICS AND ELECTRONICS	15.621	1
ANGEWANDTE CHEMIE - INTERNATIONAL EDITION	12.257	1
NATURE STRUCTURAL AND MOLECULAR BIOLOGY	12.109	1
NATURE COMMUNICATIONS	11.878	2
EMBO JOURNAL	11.227	1
NUCLEIC ACIDS RESEARCH	11.147	1
LEUKEMIA	9.944	1
GENOME RESEARCH	9.944	1
SEMINARS IN CANCER BIOLOGY	9.658	1
PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE U S A	9.58	2
CHEMICAL SCIENCE	9.556	1



2016

- **13** статей (4% от общего числа статей)
- СУМ ИФ **345**

2017

- **13** статей (3% от общего числа статей)
- СУМ ИФ **322**

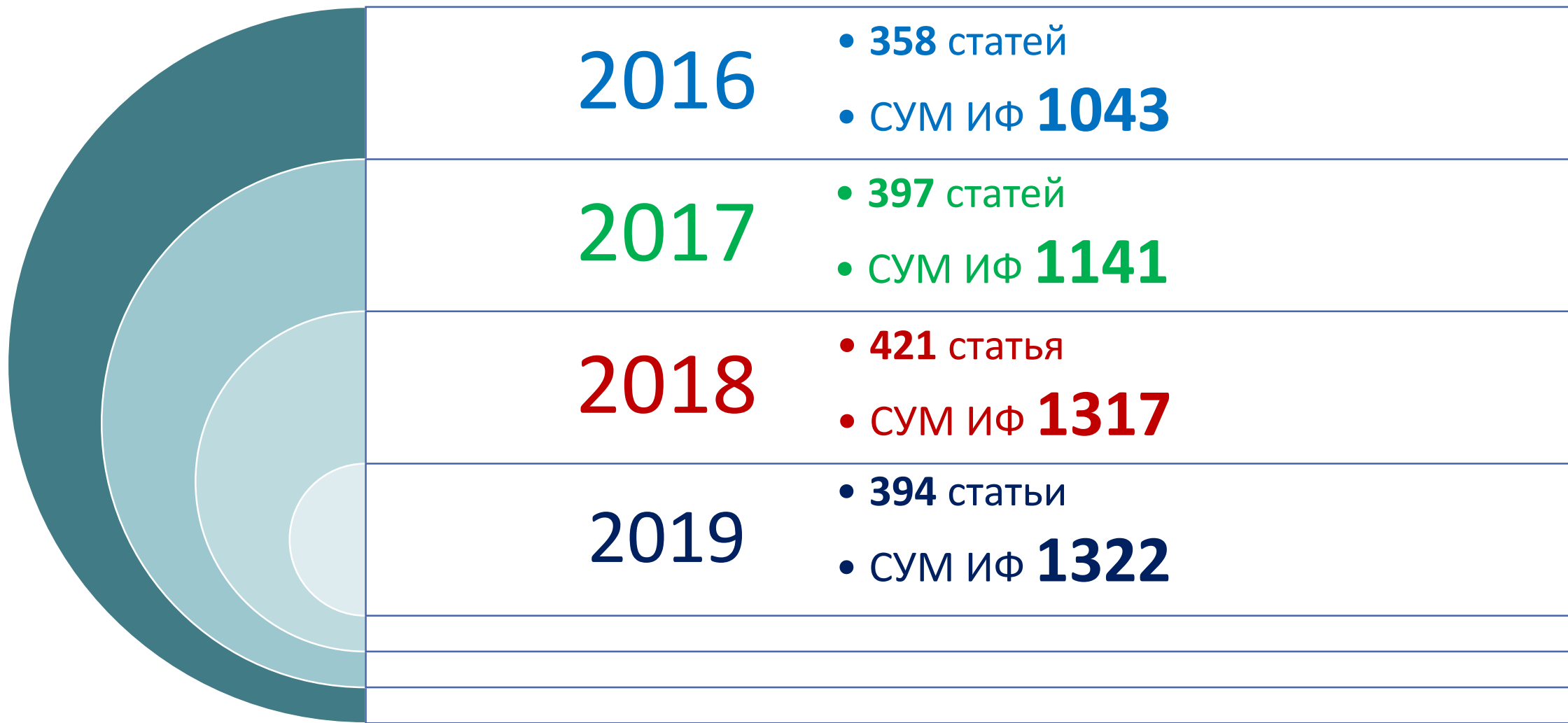
2018

- **24** статьи (6% от общего числа статей)
- СУМ ИФ **384**

2019

- **15** статей (4% от общего числа статей)
- СУМ ИФ **227**

ДИНАМИКА ИМПАКТ-ФАКТОРА ПО ВСЕМ ОПУБЛИКОВАННЫМ СТАТЬЯМ (2016-2019)





ВОИНСКОГО

Собора Того!

Lushka

