



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 2020 ГОДУ



АНАЛИЗ ОСНОВНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ



COVID-19: КОМПЛЕКСНАЯ ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА

КОМПЛЕКСНАЯ тест-система **IgA IgM IgG** для раннего обнаружения антител к SARS-CoV-2



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ
И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



РЗН 2020/11104

РЗН 2020/11010



РЗН 2020/11531

РЗН 2020/11529





ИБХ РАН, «ФАРМСИНТЕЗ» и HiFiBio Therapeutics ЗАЙМУТСЯ РАЗРАБОТКОЙ ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ COVID-19



ИБХ РАН, ПАО «Фармсинтез» и международная биофармацевтическая компания HiFiBio Therapeutics подписали соглашения, в рамках которых участники объединят свои компетенции для проведения клинических испытаний, производства и поставок на российский рынок моноклонального антитела HFB30132A для лечения и профилактики коронавирусной инфекции SARS-CoV-2. Ранее проект был одобрен руководством Министерства здравоохранения и Минпромторга РФ.

В сочетании с разработкой рекомбинантной композитной генно-инженерной вакцины против вакцины SARS-CoV-2 организация производства нейтрализующего антитела против вируса SARS-CoV-2 формирует уникальный портфель с полным иммунобиологическим покрытием инфекции SARS-CoV-2: профилактическая вакцинация, экстренная иммунопрофилактика, иммунотерапия. Результаты проведенных в мире научных исследований сегодня позволяют говорить о том, что первое поколение вакцин, создаваемых для профилактики SARS-CoV-2 инфекции, вероятно не сможет в полной мере взять под контроль распространение вируса SARS-CoV-2. В этих условиях расширение арсенала средств специфической иммунотерапии SARS-CoV-2 инфекции приобретает критическое значение.



COVID-19: ВАКЦИНА

Министерством высшего образования и науки, Министерством промышленности и торговли и Министерством здравоохранения РФ нашему Институту поручен проект разработки сред для выращивания клеточных линий по производству вакцины «Спутник V».

В работах примут участие

- Отдел белково-пептидных технологий ИБХ РАН
- Отдел биоинженерии ИБХ РАН
- Опытное биотехнологическое производство ИБХ РАН

При участии индустриального партнера компании «Фармсинтез»



ФАРМСИНТЕЗ



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

ИФ 75,1

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

ИФ 83,4

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

ИФ 46,7

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

ИФ 5,4

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

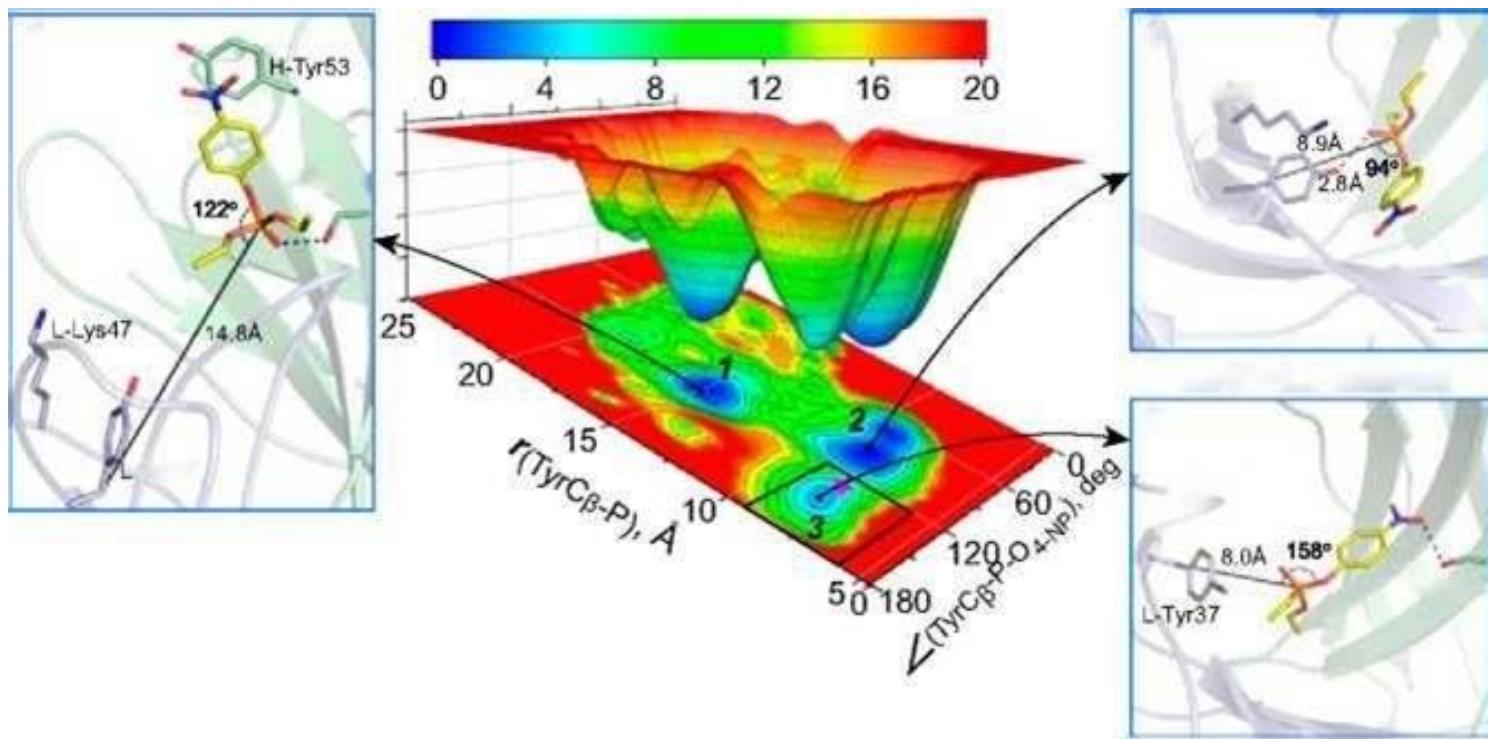
ИФ 4,8

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

ИФ 1

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

С ПОМОЩЬЮ КВАНТОВО-МЕХАНИЧЕСКОГО МОЛЕКУЛЯРНО-МЕХАНИЧЕСКОГО (QM/MM) ПОДХОДА ОБЪЯСНЕНО ИЗМЕНЕНИЕ СТЕРЕОПЕЦИФИЧНОСТИ АНТИТЕЛ

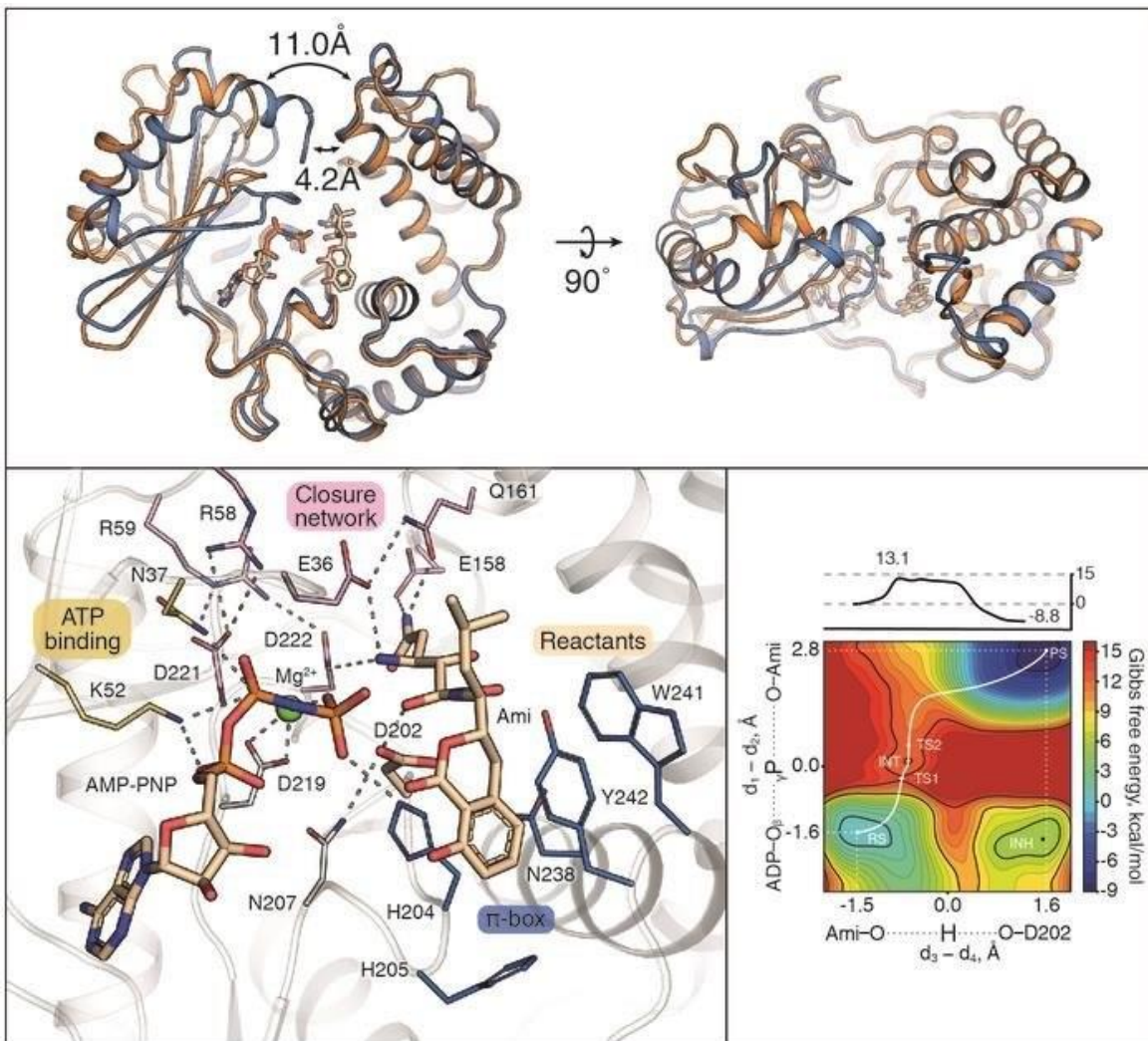


Разработан новый подход на основе метода квантовой механики/молекулярной механики (QM/MM) и funnel-метадинамики с использованием возможностей суперкомпьютера для направленного изменения реакционной способности иммуноглобулинов (Ig). Это было достигнуто за счет определения позиций и типа аминокислотных остатков для замены в каталитическом центре, что позволило обеспечить усиление нуклеофильности атакующего остатка Тирозина 37.

Оптимизированный с точки зрения вычислений вариант, L-Leu47Lys, обеспечивает 340-кратное увеличение реакционноспособной полученного мутантного варианта по сравнению с Ig-параоксоназой дикого типа в результате индуцированной субстратом ионизации остатка Тирозина 37. Этот универсальный алгоритм был с успехом использован для объяснения стереоселективности мутантных антител по отношению к Р-хиральному фенолфосфонату. Эти расчеты были подтверждены кинетическими и кристаллографическими методами.

Mokrushina YA и др. (2020) Multiscale computation delivers organophosphorus reactivity and stereoselectivity to immunoglobulin scavengers. *Proc Natl Acad Sci U S A* (ИФ 9.412)

ОТКРЫТ ФЕРМЕНТ – КИНАЗА AmiN, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЙ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К АНТИБИОТИКУ АМИКУМАЦИНУ

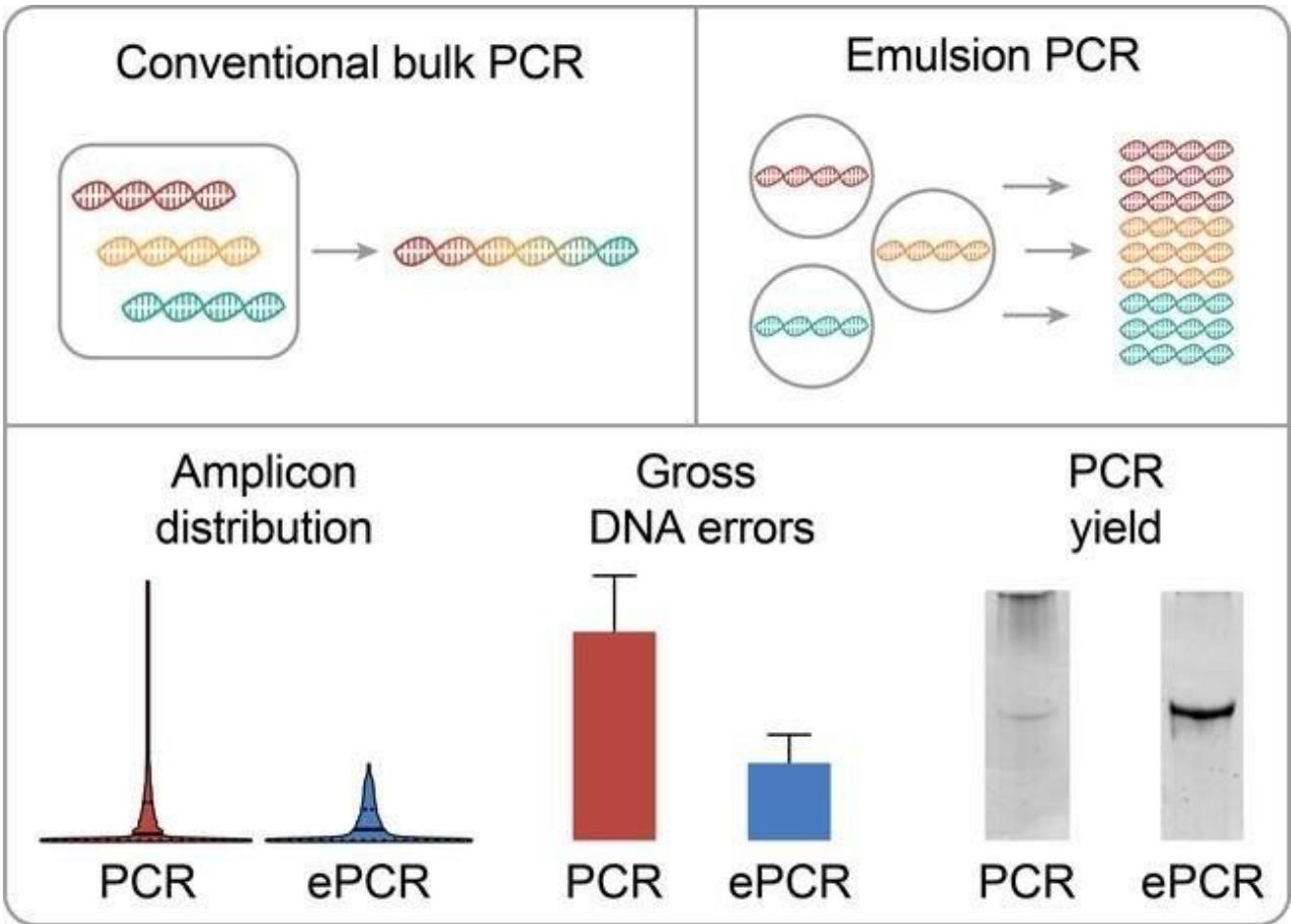


Открыт фермент – киназа AmiN, обеспечивающий резистентность к антибиотику амикумацину.

Уникальность данной киназы заключается в ее необычайно высоком сродстве к субстрату, позволяющем высокоэффективно элиминировать даже следовые количества антибиотика в диапазоне наномолярных концентраций.

Комплекс методов, включающих рентгеноструктурный анализ и математическое моделирование, позволил детально исследовать совершенный механизм катализа, связанный с закрытием активного центра фермента.

Terekhov SS и др. (2020) A kinase bioscavenger provides antibiotic resistance by extremely tight substrate binding. *Sci Adv* (ИФ 13.116)



Показано, что амплификация отдельных молекул ДНК, инкапсулированных в огромном количестве капель эмульсии (ePCR), позволяет решить эту проблему. Различные режимы ePCR были экспериментально проанализированы, чтобы определить наиболее совершенные методы амплификации библиотек ДНК. На основе полученных экспериментальных данных была разработана математическая модель, являющаяся основой для рационализации амплификации библиотек с использованием ePCR. Детальное описание ампликонов библиотек ДНК было получено в результате высокопроизводительного секвенирования, подчеркивающего основные преимущества ePCR по сравнению с обычной PCR.

ePCR снижает частоту возникновения грубых ошибок в процессе ДНК амплификации и обеспечивает более равномерное распределение амплифицированных последовательностей.

Таким образом, благодаря ePCR достигается квазимолекулярная амплификация, представляющая собой фундаментальное требование при амплификации сложных матриц.

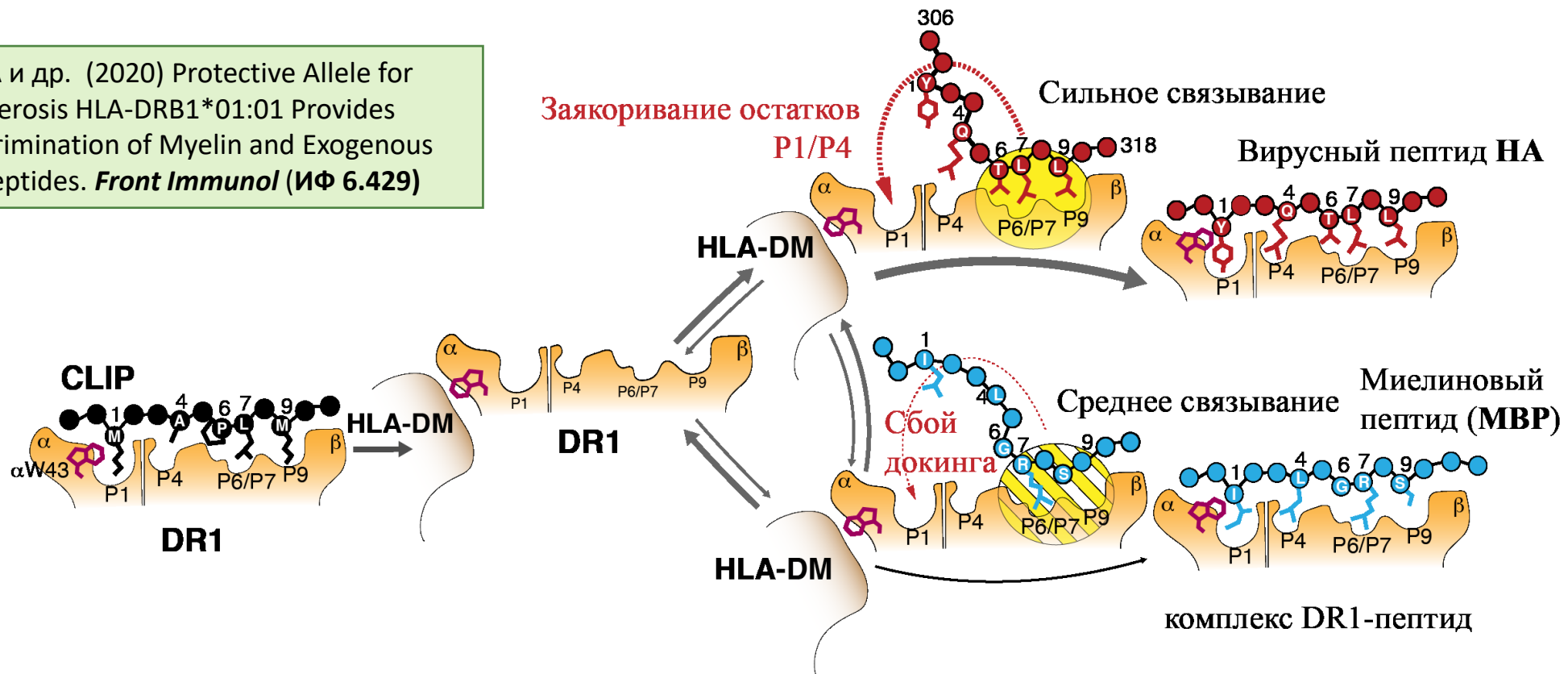
Исследователи показали, что ePCR препятствует дегенерации разнообразия и обеспечивает сохранение качества библиотек ДНК.

Terekhov SS и др. (2020) Liquid drop of DNA libraries reveals total genome information. *Proc Natl Acad Sci U S A* (ИФ 9.412)

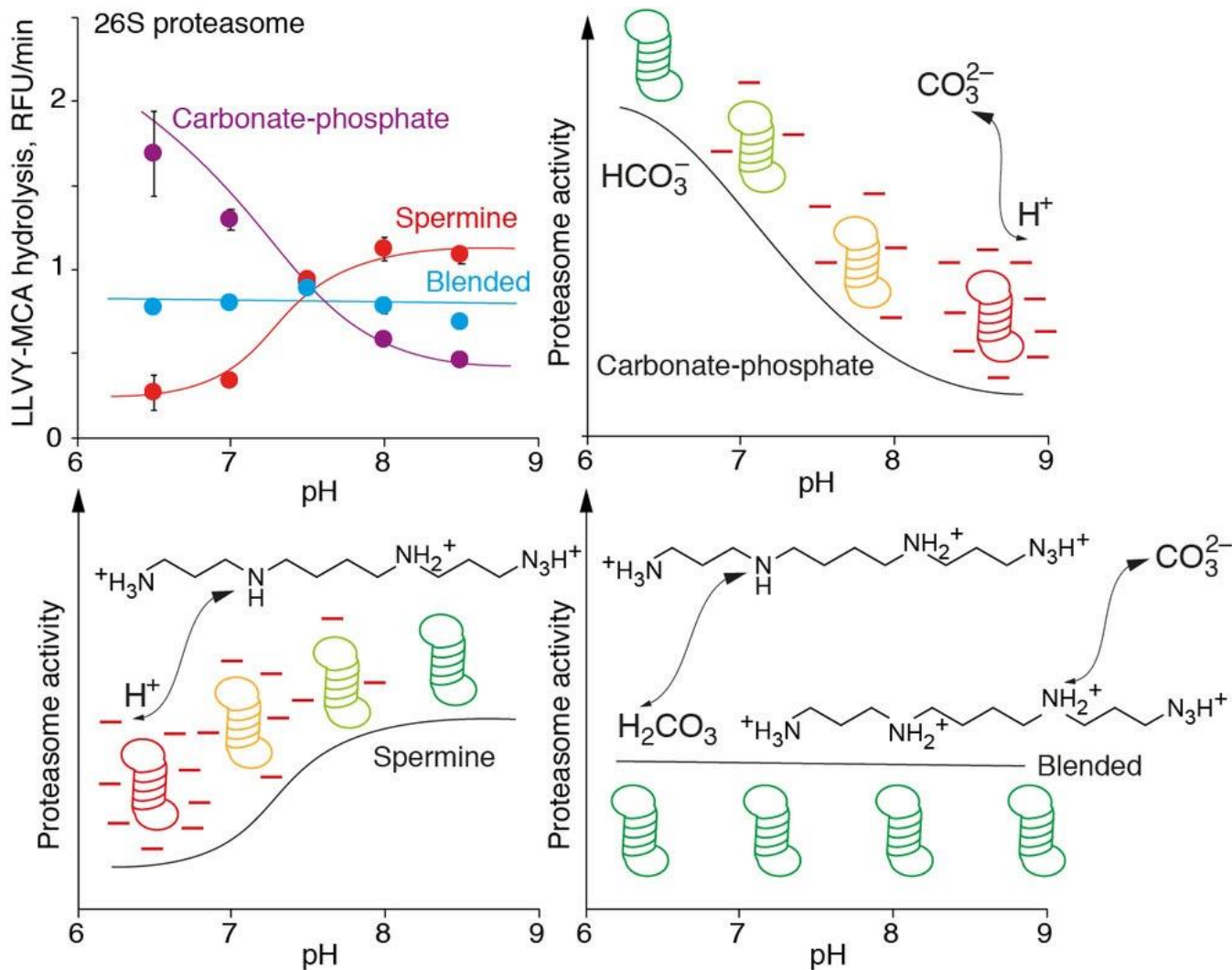


ПРОТЕКТИВНЫЙ АЛЛЕЛЬ HLA-DRB1*01:01 В СЛУЧАЕ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА ОБЕСПЕЧИВАЕТ КИНЕТИЧЕСКУЮ ДИСКРИМИНАЦИЮ МИЕЛИНОВЫХ И ЭКЗОГЕННЫХ АНТИГЕННЫХ ПЕПТИДОВ

Mamedov A и др. (2020) Protective Allele for Multiple Sclerosis HLA-DRB1*01:01 Provides Kinetic Discrimination of Myelin and Exogenous Antigenic Peptides. *Front Immunol* (ИФ 6.429)



Было показано, что протективный аллель HLA-DRB1*01:01 в случае рассеянного склероза кинетически различает вирусный экзогенный и миелиновые эндогенные пептиды при схожих термодинамических свойствах. Кроме того, ключевую роль в разнице в скорости связывания пептидов играет строение С-концевой части. Кинетическая компонента презентации играет существенную роль в процессе активации иммунного ответа, а также молекулярные особенности загрузки антигенного пептида на МНС II, предлагающие этап кинетической дискриминации, могут лежать в основе предполагаемого механизма протективности.

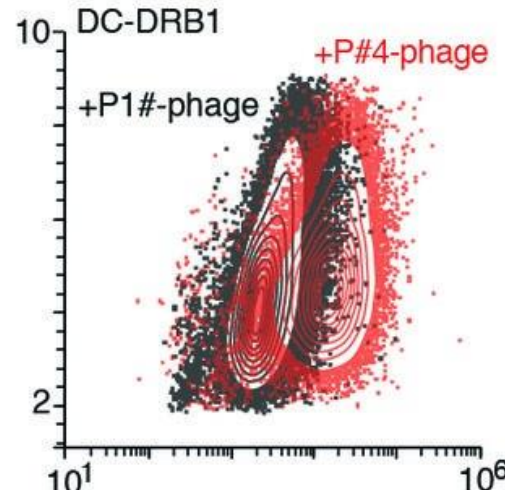
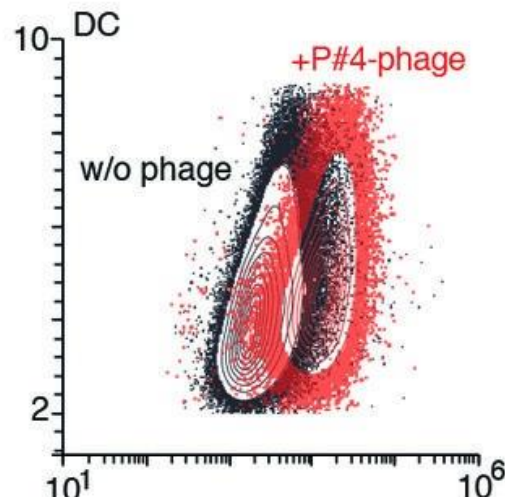
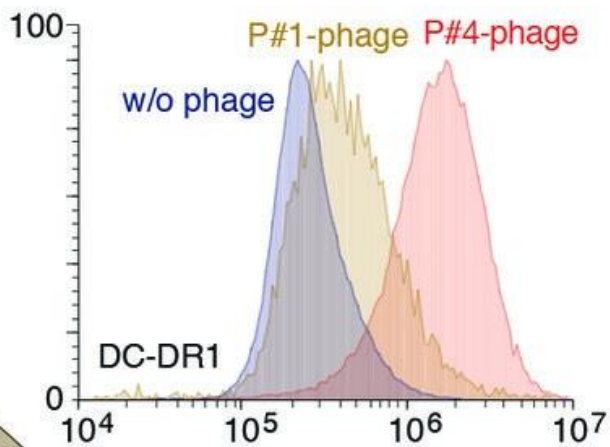
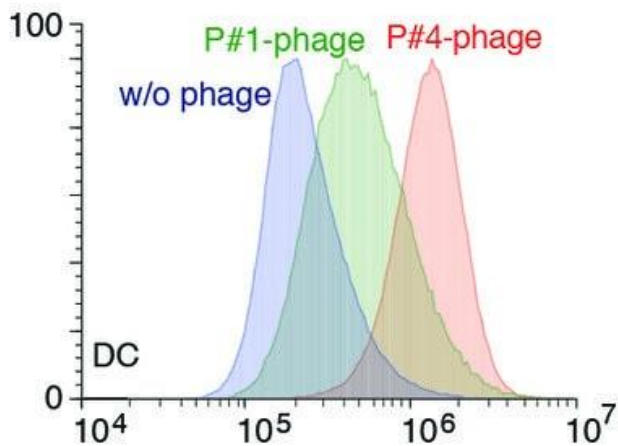
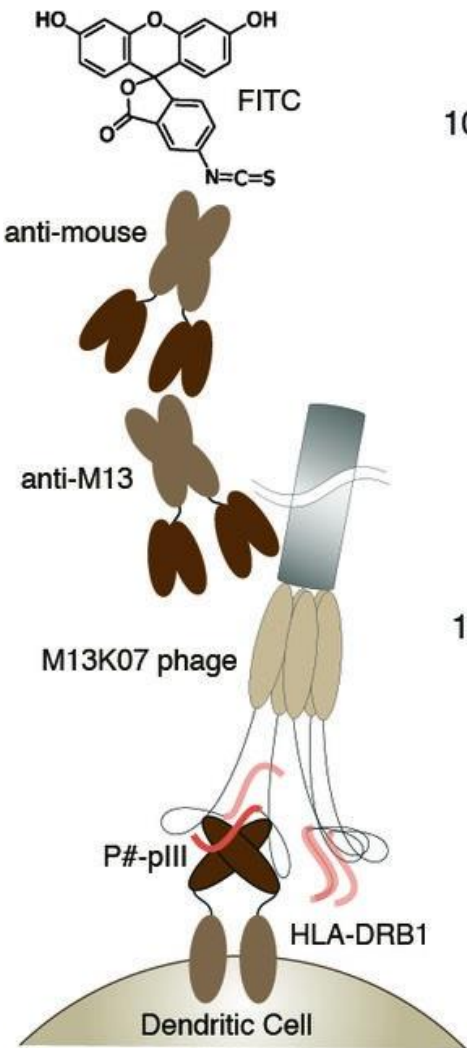


Полиамины, включая такие природные амины как спермин и спермидин, способны поддерживать активность протеасомальных комплексов в условиях защелачивания, характерного для злокачественно трансформированных клеток. Новое прочтение роли природных полиаминов в поддержании метаболизма и метастазирования опухолей.

Kudriaeva AA и др. (2020) Polyamines Counteract Carbonate-Driven Proteasome Stalling in Alkaline Conditions. *Biomolecules* (ИФ 4.694)



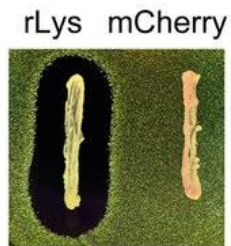
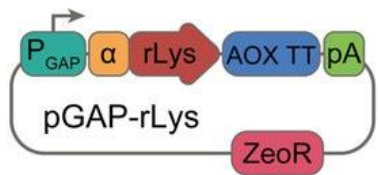
СОЗДАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ CYCLOPS (CYTOMETRY CELL-LABELLING OPERABLE PHAGE SCREENING)



Разработка технологии высокопроизводительного скрининга лигандов поверхностных рецепторов.

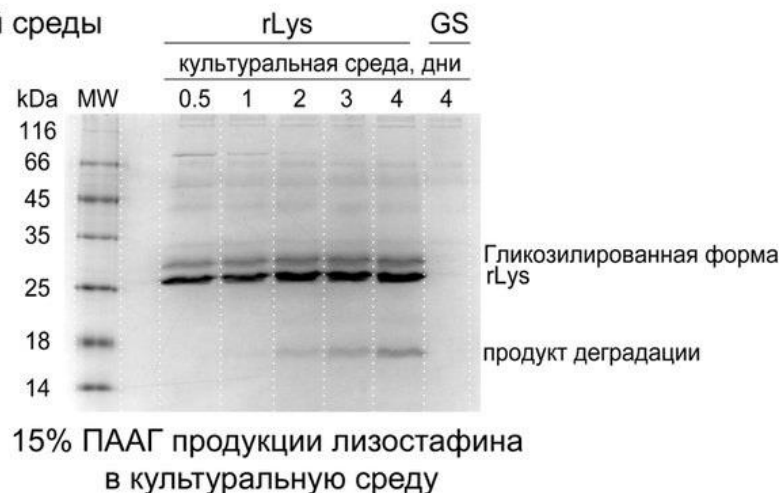
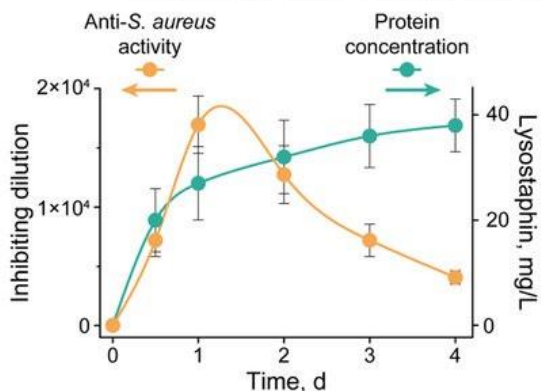
Ishina IA и др. (2020) Exhaustive Search of the Receptor Ligands by the CyCLOPS (Cytometry Cell-Labeling Operable Phage Screening) Technique. *Int J Mol Sci* (ИФ 4.556)

Анализ антимикробной активности по отношению к *S. aureus*

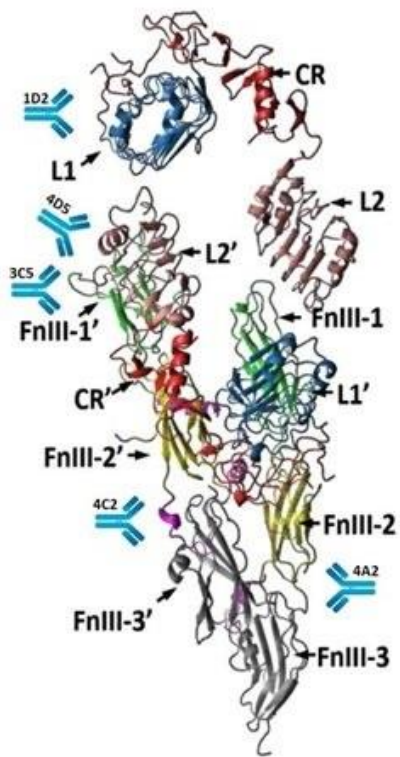


- ❑ Уничтожение этого часто встречаемого инфекционного агента особенно затруднено из-за чрезмерного образования биопленок и резистентных клеток, которые уклоняются от действия антибактериальных препаратов.
- ❑ Конститутивная гетерологичная продукция высокоспецифичной бактериолитической протеазы лизостафина в дрожжах *Pichia pastoris* выступает как эффективный агент биоконтроля, в частности убивая *S. aureus* в сокультуре.
- ❑ Полученный пробиотик *S. aureus* эффективен в широком диапазоне температур и соотношении мишень-фактор, что указывает на его надежность и универсальность в устранении клеток *S. aureus*.
- ❑ Дальнейшее биомедицинское применение новых агентов биоконтроля на основе дрожжей требуют оценки на моделях *in vivo*. Однако мы считаем эту стратегию очень многообещающей, поскольку она обеспечивает безопасные, эффективные и селективные генетически запрограммированные пробиотики и целевые агенты биоконтроля.

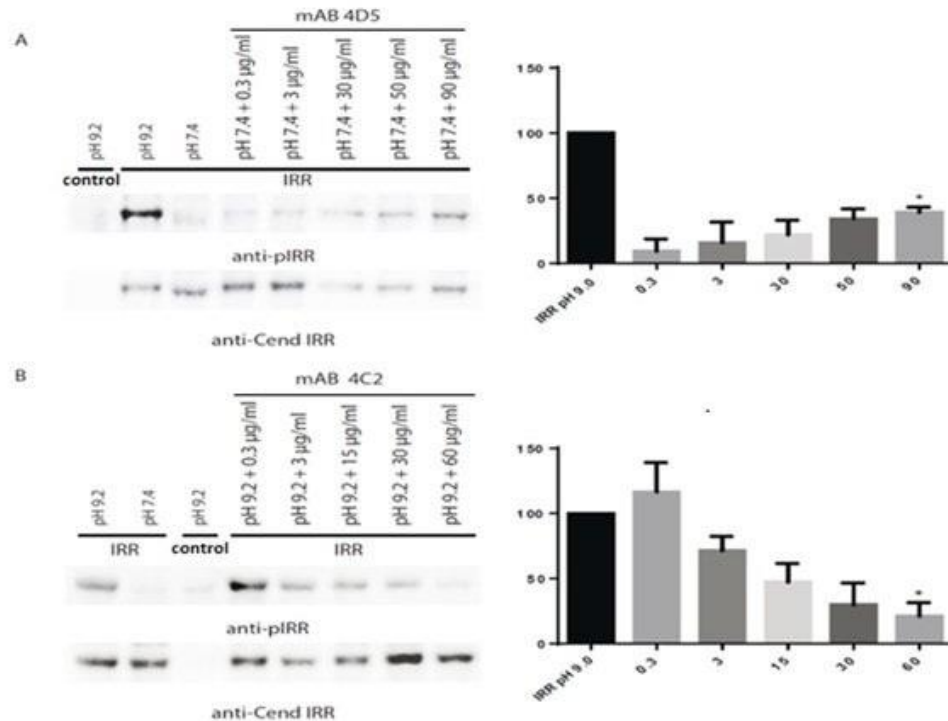
Зависимость активности культуральной среды от длительности культивации



1. Pipiya SO и др. (2020) Selective Eradication of Staphylococcus aureus by the Designer Genetically Programmed Yeast Biocontrol Agent. **Antibiotics (Basel)** (ИФ 3.893)
2. Terekhov SS и др. (2020) Deep Functional Profiling Facilitates the Evaluation of the Antibacterial Potential of the Antibiotic Amicoumacin. **Antibiotics (Basel)** (ИФ 3.893)



Scheme of the binding of monoclonal antibodies to IRR.



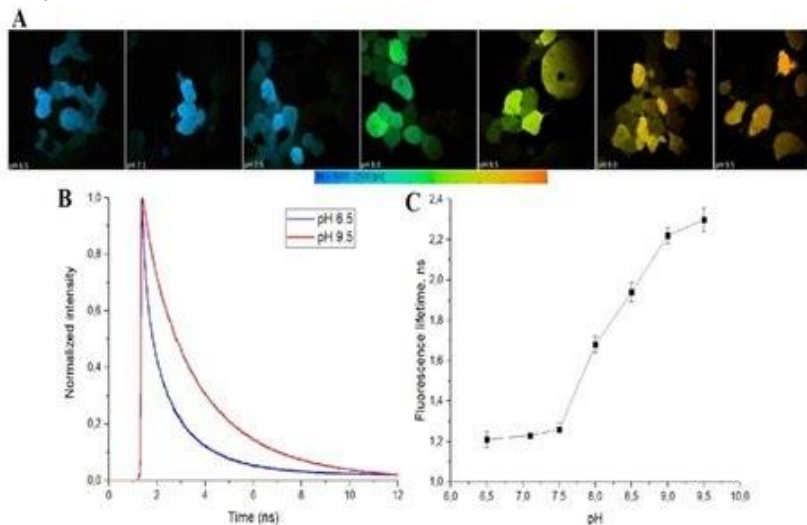
IRR activation by 4D5 antibody and inhibition by 4C2 antibody.

- Получены шесть мышинных моноклональных антител против рекомбинантного эктодомена IRR.
- Определены сайты связывания полученных антител с IRR.
- Показано, что антитело 4D5 способно активировать IRR при нейтральном значении pH, а антитело 4C2 ингибирует активацию IRR щелочной средой.

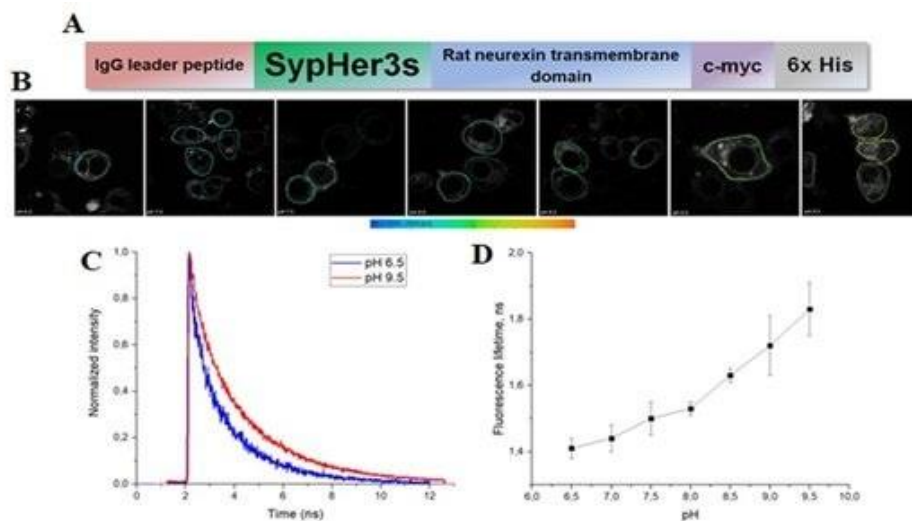
Проведенное исследование является первым описанием объектов белковой природы, способных регулировать активность сиротского рецептора IRR, а также подтверждает, что активация щелочной средой является неотъемлемым свойством этой рецепторной тирозинкиназы.

Goryashchenko AS и др. (2020) Probing structure and function of alkali sensor irr with monoclonal antibodies. *Biomolecules* (ИФ 4.082)

Можаев АА и др. (2017) Получение и иммунохимическая характеристика моноклонального антитела к эктодомену рецептора, подобного рецептору инсулина (IRR). *Биоорг. химия*



A. FLIM images of the *nigericin*-treated HEK293 cells expressing cytoplasmic SypHer3s sensor at different pH values from 6.5 (left image) to 9.5 (right image). **B.** Fluorescence decay kinetics of the cytoplasmic SypHer3s in HEK293 cells treated with *nigericin* at pH 6.5 (blue curve) and pH 9.5 (red curve). **C.** The pH-dependence of the cytoplasmic SypHer3s fluorescence lifetime in HEK293 cells treated with *nigericin*.



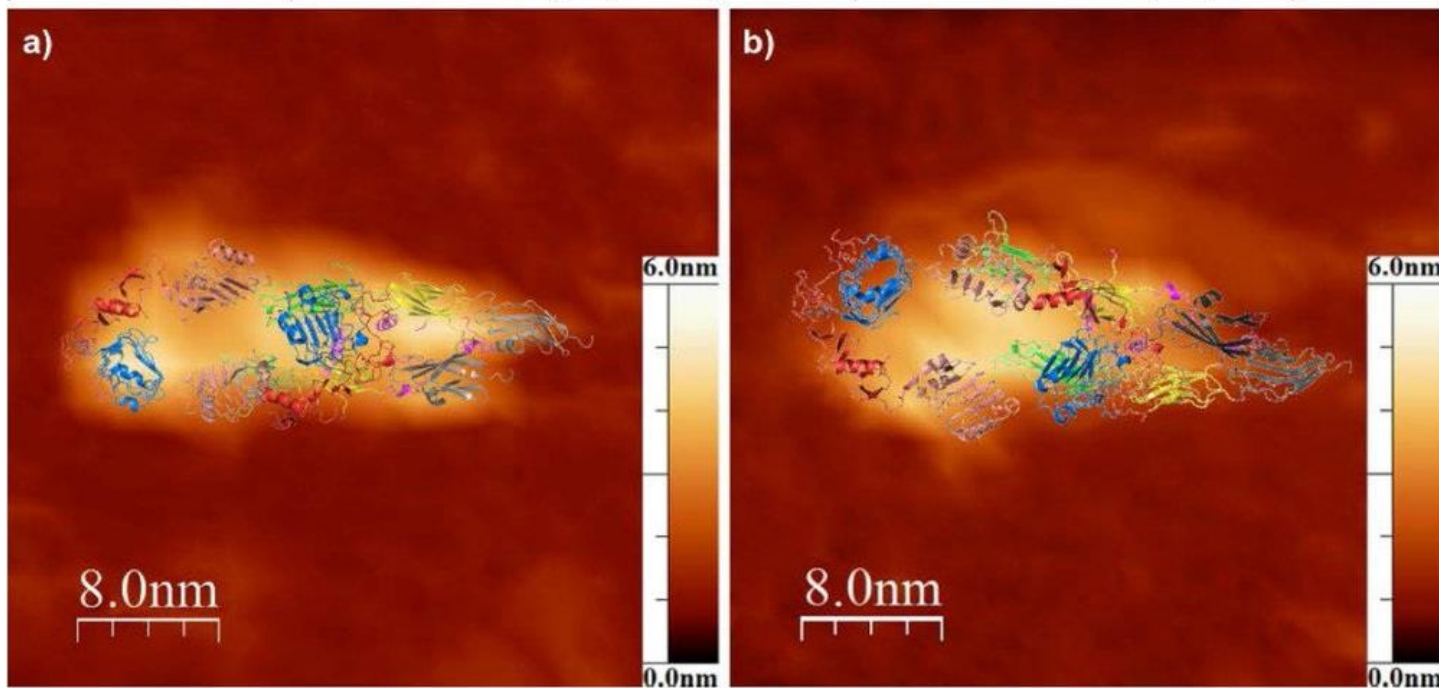
A. Schematic representation of a genetically-encoded construct *SypHerExtra* with extracellular expression and membrane anchoring. **B.** FLIM images of the HEK293 cells expressing *SypHerExtra* sensor at different pH values from 6.5 (left image) to 9.5 (right image). **C.** Fluorescence decay kinetics of *SypHerExtra* in HEK293 cells at pH 6.5 (blue curve) and pH 9.5 (red curve). **D.** The pH-dependence of *SypHerExtra* fluorescence lifetime in HEK293 cells.

- На основе ранее описанного pH-сенсора SypHer3s создан сенсор внеклеточного слабощелочного pH SypHerExtra, представляющий собой SypHer3s с трансмембранным доменом нейрексина-1.
- Продемонстрировано, что при возбуждении на длине волны 445 нм время жизни флуоресценции сенсоров SypHer3s и SypHerExtra зависит от значения pH.
- Показано, что указанные сенсоры позволяют определять значения внутриклеточного и внеклеточного pH соответственно в диапазоне от pH 6.5 до 9.5 с помощью метода FLIM в различных биологических системах.

1. Орса А.Н. et al. (2021) Получение и характеристика генетически кодируемых флуоресцентных сенсоров внеклеточного pH *Russ J Bioorg Chem.* (ИФ 0.682) (принято к публикации)
2. Martynov VI и др. (2018) Genetically encoded fluorescent indicators for live cell pH imaging. *Biochim Biophys Acta* (ИФ 3.422)
3. Pakhomov AA и др. (2017) Fluorescent protein Dendra2 as a ratiometric genetically encoded pH-sensor. *Biochem Biophys Res Commun* (ИФ 2.985)

ВЫЯВЛЕНА КАПЛЕВИДНАЯ ФОРМА ЭКТОДОМЕНА ЩЕЛОЧНОГО СЕНСОРА ИРР

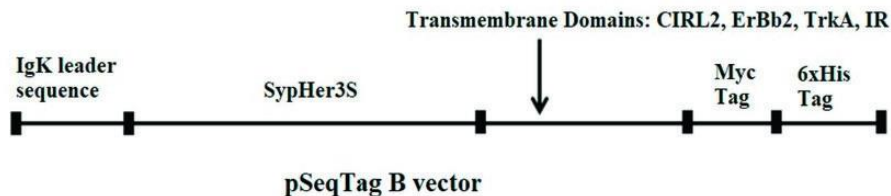
	pH 7.0	pH 9.0
Height	3.0 ± 0.6 nm (SD, n = 28)	3.2 ± 0.3 nm (SD, n = 9)
Length	20 ± 3 nm (SD, n = 28)	20 ± 2 nm (SD, n = 9)
Width	9 ± 3 nm (SD, n = 28)	10 ± 2 nm (SD, n = 9)



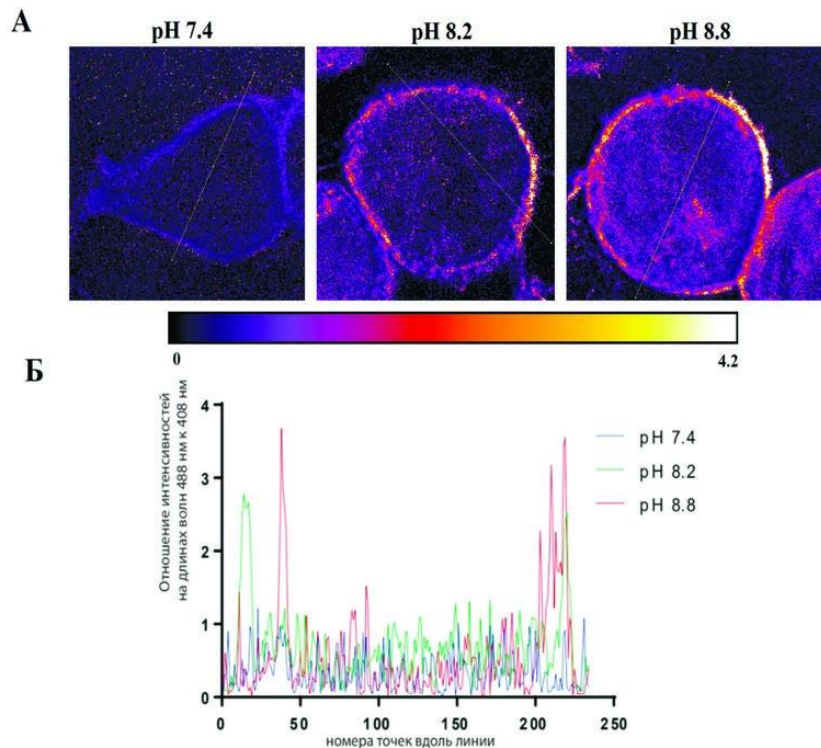
Используя атомно-силовую микроскопию (AFM), мы исследовали общую конформацию рекомбинантного растворимого эктодомена IRR (ectoIRR) при нейтральном и щелочном pH. В отличие от хорошо известной перевернутой U-образной конформации рецептора инсулина, структурные модели, реконструированные при различных значениях pH, показали, что организация ectoIRR имеет «каплевидную» форму с более коротким расстоянием между доменами фибронектина. При защелачивании внеклеточной среды происходят незначительные конформационные изменения, что говорит о том, что в активацию ectoIRR вовлечены дополнительные молекулярные механизмы, взаимодействие соседних рецепторных областей, влияние окружающей липидной среды.

1. Batishchev OV и др. (2021) Structure and conformations of the full-length insulin receptor-related receptor *JBC* (under revision)
2. Shtykova EV и др. (2019) The dimeric ectodomain of the alkali-sensing insulin receptor-related receptor (ectoIRR) has a drop-like shape. *J Biol Chem* (ИФ 4.238)
3. Mozhaev AA и др. (2019) Optimization of Heterologous Expression of Insulin Receptor-Related Receptor Ectodomain. *Dokl Biochem Biophys* (ИФ 0.672)

Схема конструкций кодирующих внеклеточные сенсоры



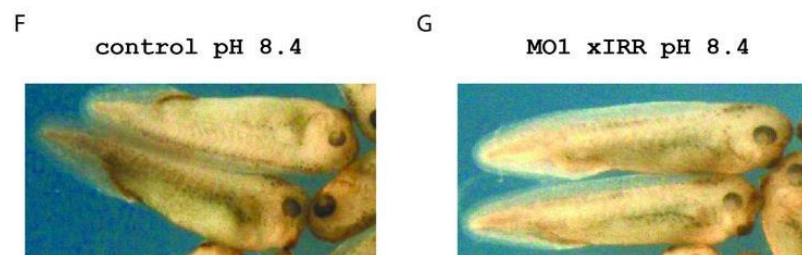
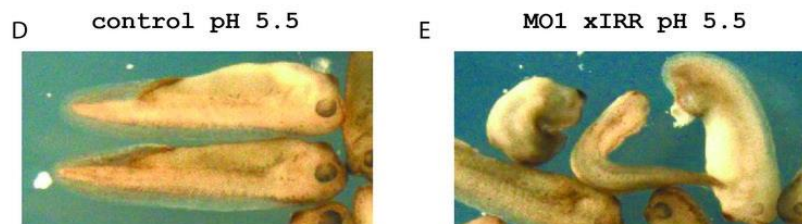
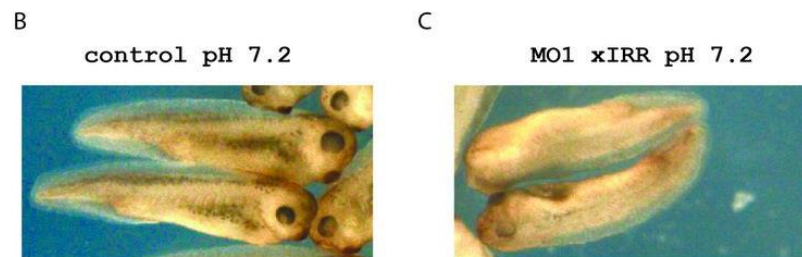
pH-чувствительность одного из полученных сенсоров внеклеточного pH



Флуоресцентные белки в последнее время стали неотъемлемым инструментом для прижизненной визуализации различных процессов, протекающих в живых системах, начиная от отдельных органелл и заканчивая целыми организмами. Они позволяют наблюдать экспрессию белков, их локализацию, а также пригодны для мониторинга биохимических процессов в клетках. Как правило, флуоресцентные белки имеют pH-зависимые спектральные свойства, что позволяет конструировать на их основе генетически кодируемые pH-сенсоры для решения различных биологических задач.

В данной работе мы получили набор сенсоров внеклеточного pH на основе белка SypHer3S, имеющего pH чувствительность в диапазоне значений pH от 7.4 до 9.0. Для этого были созданы химерные конструкции SypHer3S с различными трансмембранными доменами мембранных рецепторов, позволяющих направлять данный белок на внешнюю сторону цитоплазматической мембраны. Была охарактеризована их субклеточная локализация и подобран наиболее успешный вариант химерного pH-сенсора для измерения внеклеточного значения pH.

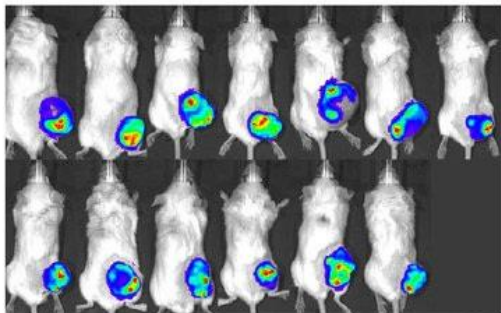
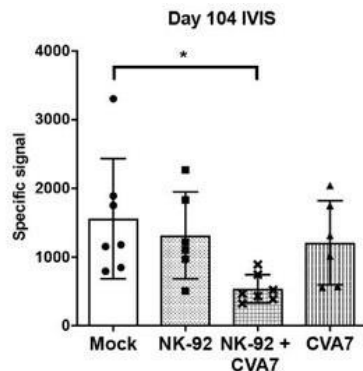
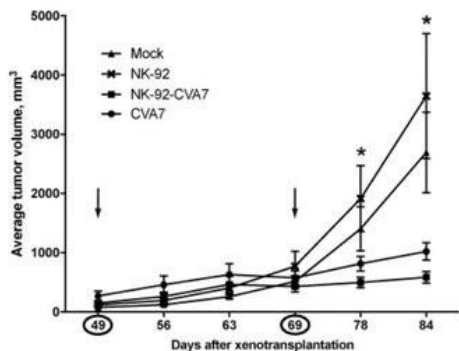
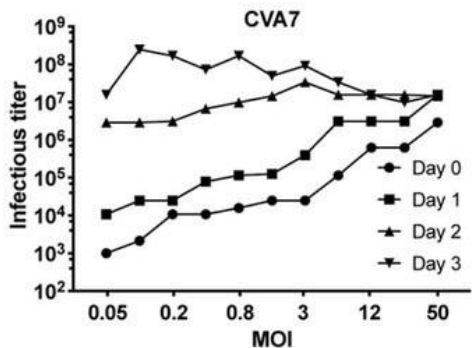
Статья по результатам работы принята к публикации в журнале *Биоорганическая химия*, 2021



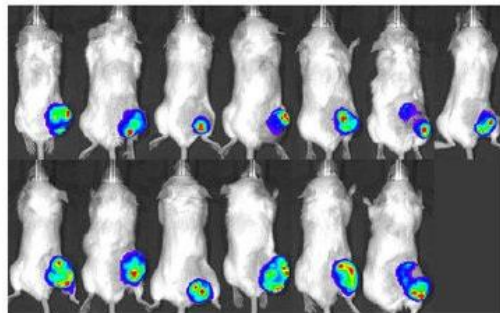
Рецептор подобный-рецептору инсулина (IRR), в отличие от своих близких гомологов, рецептор инсулина (IR) и рецептор инсулиноподобного фактора роста (IGF-IR) могут быть активированы слабощелочной внеклеточной средой. В отличие от повсеместно экспрессируемых IR и IGF-IR, IRR обнаруживается в определенных наборах клеток только в некоторых тканях, большинство из которых подвергаются воздействию экстракорпоральных жидкостей с экстремальным pH. Передача сигналов IR и IGF-IR важна для роста и развития в эмбриогенезе рыбок или лягушек. Напротив, роль активации IRR во время эмбриогенеза неизвестна, хотя ооциты лягушки имеют сильную экспрессию IRR. Чтобы решить эту проблему, мы исследовали функцию IRR во время развития *Xenopus laevis* посредством морфолино-опосредованного селективного нокдауна IRR. Мы продемонстрировали, что ингибирование экспрессии IRR у *Xenopus laevis* приводит к задержке развития, но этот фенотип может быть восстановлен путем инкубации эмбрионов в щелочной среде. Кроме того, используя последовательность РНК общей РНК, мы показали, что ингибирование IRR резко изменило транскриптом эмбриона и частично восстановилось после обработки щелочью. Мы идентифицировали несколько сотен генов (*eomes*, *frzb*, *рахб* и др.), экспрессия которых изменяется после нокдауна IRR и восстанавливается под воздействием щелочи. Наши результаты ясно демонстрируют, что IRR играет ранее неизвестную важную роль в эмбриогенезе и росте лягушек.

Deyev IE и др. (2020) Role of the insulin receptor-related receptor in *Xenopus laevis* development. *The FASEB Journal* (ИФ 4.170)

КЛЕТКИ ИММУНОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ NK-92 СПОСОБНЫ ЭФФЕКТИВНО ДОСТАВЛЯТЬ ОНКОЛИТИЧЕСКИЙ ЭНТЕРОВИРУС CVA7 К ОПУХОЛЯМ



Mock



NK-92
+CVA7

NK-92

CVA7

Многие непатогенные энтеровирусы считаются многообещающими онколитическими агентами; однако их системное введение в малоэффективно из-за быстрой нейтрализации вируса в кровотоке и барьерных функций эндотелия. Мы испытали клеточную линию натуральных киллеров в качестве носителей для доставки онколитических энтеровирусов, что позволило бы сочетать эффекты клеточной иммунотерапии с виротерапией. Мы протестировали четыре штамма непатогенных энтеровирусов против панели клеточных линий глиобластомы и оценили полученные инфекционные титры. Далее была испытана клеточная доставка при помощи линии NK-92, которая уже проходит клинические испытания в качестве иммунотерапевтического средства.

Оказалось, что только вирус Коксаки А7 (CVA7) был способен эффективно реплицироваться в клетках NK-92. Сравнение эффективности доставки CVA7 *in vivo* с использованием клеток NK-92 и прямого внутривенного введения показало, что клеточная доставка более эффективна даже при однократном введении. Это указывает, что клеточная линия NK-92 может быть использована в качестве вектора для доставки онколитического штамма CVA7, что может улучшить клинический потенциал этого вирусного онколитака для лечения глиобластомы и других видов рака.



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





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

ИФ 51,1

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

ИФ 134,9

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

ИФ 5,1

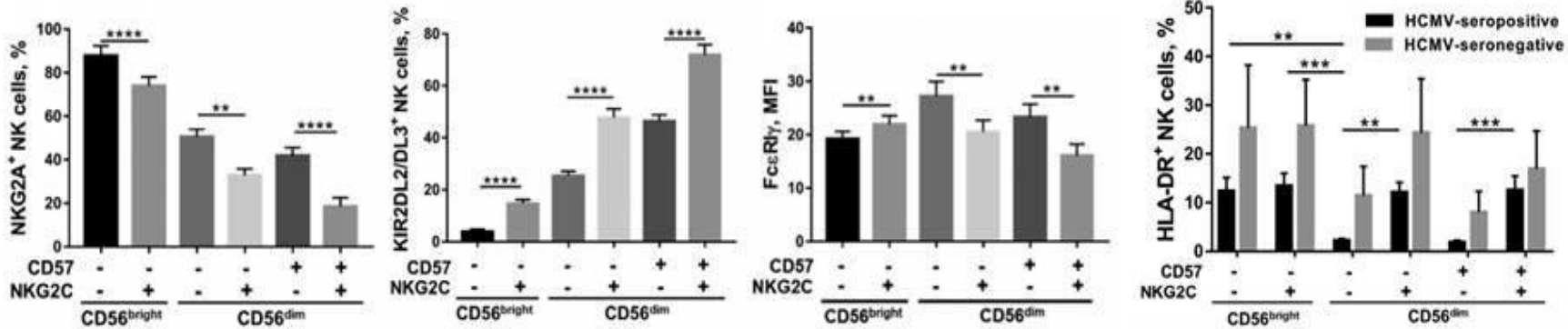
- **Лаборатория молекулярной тераностики**
В.И. Мартынов

ИФ 10,1

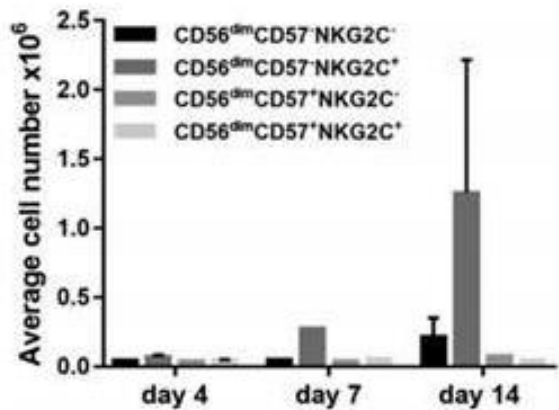
- **Группа онконанотехнологий**
А.В. Звягин

ОБЛАДАЮЩИЕ ВЫСОКИМ ПРОЛИФЕРАТИВНЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ НК-КЛЕТКИ CD56dimCD57-NKG2C+ ЯВЛЯЮТСЯ ВОЗМОЖНЫМИ ПРЕДШЕСТВЕННИКАМИ АДАПТИВНЫХ НК-КЛЕТОК

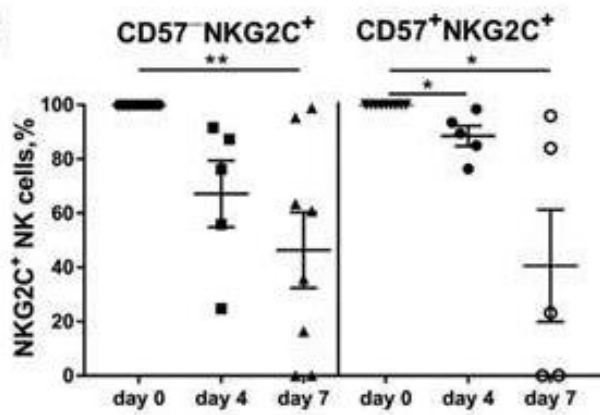
1



2



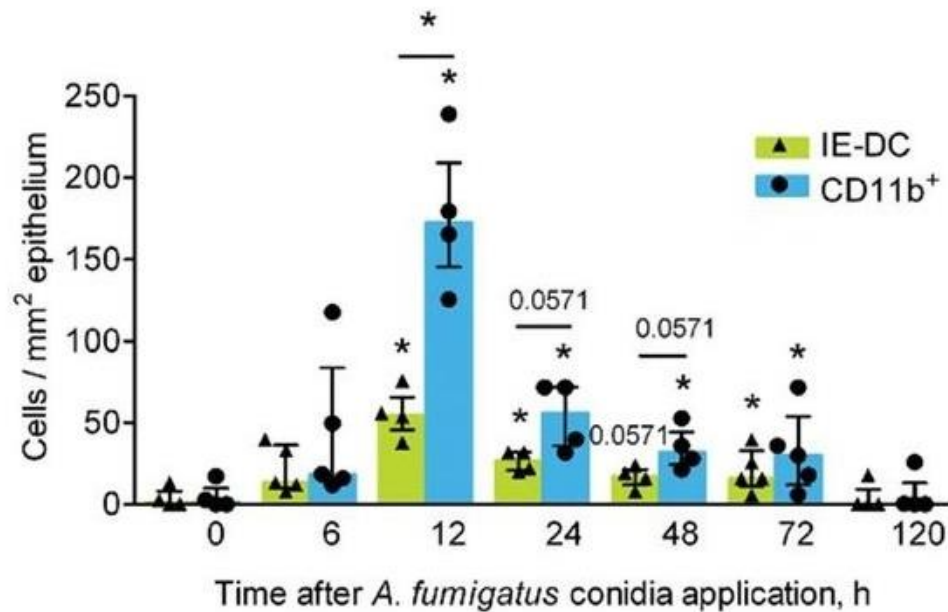
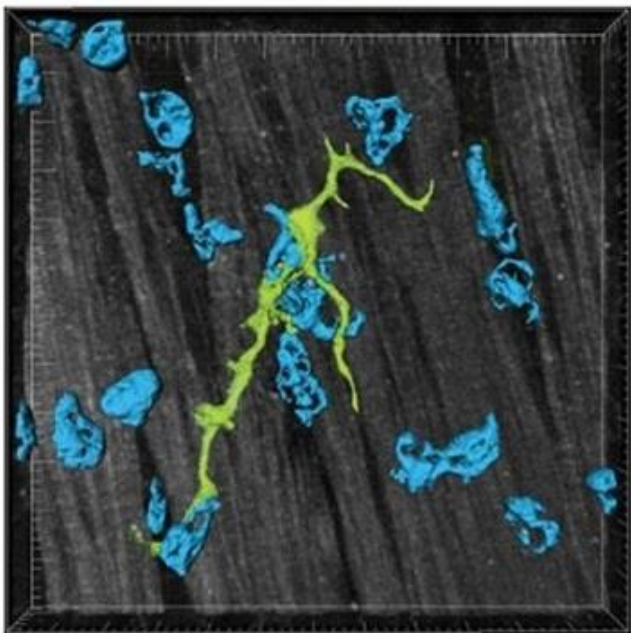
3



- NK-клетки из субпопуляции CD56dimCD57-NKG2C+ демонстрируют сходные паттерны экспрессии ряда поверхностных и внутриклеточных маркеров с клетками из субпопуляции CD56dimCD57+NKG2C+. В обеих популяциях зарегистрирован повышенный уровень активированных, HLA-DR-экспрессирующих NK-клеток.
- NK-клетки CD56dimCD57-NKG2C+ обладают высокой пролиферативной активностью и выживаемостью при культивировании *in vitro*.
- В процессе культивирования NK-клетки могут терять экспрессию NKG2C, а также экспрессию маркера терминальной дифференцировки CD57.

1. Kobyzeva PA и др. (2020) CD56dimCD57-NKG2C+ NK cells retaining proliferative potential are possible precursors of CD57+NKG2C+ memory-like NK cells. *J Leukoc Biol* (ИФ 3.757)
2. Erokhina SA и др. (2020) HLA-DR-expressing NK cells: Effective killers suspected for antigen presentation. *J Leukoc Biol* (ИФ 3.757)

CD11c CD11b Actin



Проведено исследование субпопуляционного состава и функциональных особенностей интраэпителиальных антигенпредставляющих клеток слизистой оболочки главного бронха в отсутствие воспаления и при формировании иммунного ответа на споры условно патогенного гриба *Aspergillus fumigatus*.

- Показано, что в отсутствие воспаления интраэпителиальные антигенпредставляющие клетки представлены МНСII CD11c дендритными клетками, однако в процессе воспаления в подэпителиальное пространство также мигрируют МНСII CD11c клетки, также характеризующиеся наличием дендритов.
- Как МНСII CD11c, так и МНСII CD11c клетки взаимодействуют с CD11b фагоцитами, принимая участие в гомеостатической регуляции воспалительного процесса в дыхательных путях.

Bogorodskiy AO и др. (2020) Murine Intraepithelial Dendritic Cells Interact With Phagocytic Cells During *Aspergillus fumigatus*-Induced Inflammation. *Front Immunol* (ИФ 5.085)

Два адресных соединения → один онкомаркер

Анти-HER2
ИММУНОТОКСИН

Анти-HER2
нано-PLGA



Сильная синергия

Гибель раковых
клеток
in vitro & in vivo

- ❑ Впервые для улучшенной терапии опухолей с визуальным контролем разработана стратегия регионспецифичного нацеливания на разные участки одного и того же рецептора опухолевой клетки комбинации двух противоопухолевых токсинов с разными механизмами действия - антибиотика доксорубицина в составе адресных наночастиц с диагностическим флуоресцентным красителем и белкового адресного токсина.
- ❑ Показано строгое синергетическое действие этих токсинов на опухоль, которое позволило снизить действующую дозу противоопухолевых токсинов в 1000 раз в опытах *in vitro* и существенно улучшить терапевтический эффект *in vivo*.
- ❑ Данная стратегия позволила замедлить рост опухоли и предотвратить появления метастазов.

Shipunova VO и др. (2020) Dual Regioselective Targeting the Same Receptor in Nanoparticle-Mediated Combination Immuno/Chemotherapy for Enhanced Image-Guided Cancer Treatment. *ACS Nano* (ИФ 13.903)

УВЕЛИЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ НАНОМЕДИЦИНСКИХ ПРЕПАРАТОВ ЗА СЧЕТ УВЕЛИЧЕНИЯ ВРЕМЕНИ ИХ ЦИРКУЛЯЦИИ В КРОВОТОКЕ ПУТЕМ ПРИНУДИТЕЛЬНОЙ ВРЕМЕННОЙ ЦИТОБЛОКАДЫ МОНОНУКЛЕАРНОЙ ФАГОЦИТАРНОЙ СИСТЕМЫ



Контроль:
без введения наночастиц
без цитоблокады



Магнито-опосредованная доставка наночастиц в опухоль
без цитоблокады

Опухоль обведена красным пунктиром,
затемнения указывают на большую концентрацию
наночастиц в опухоли.

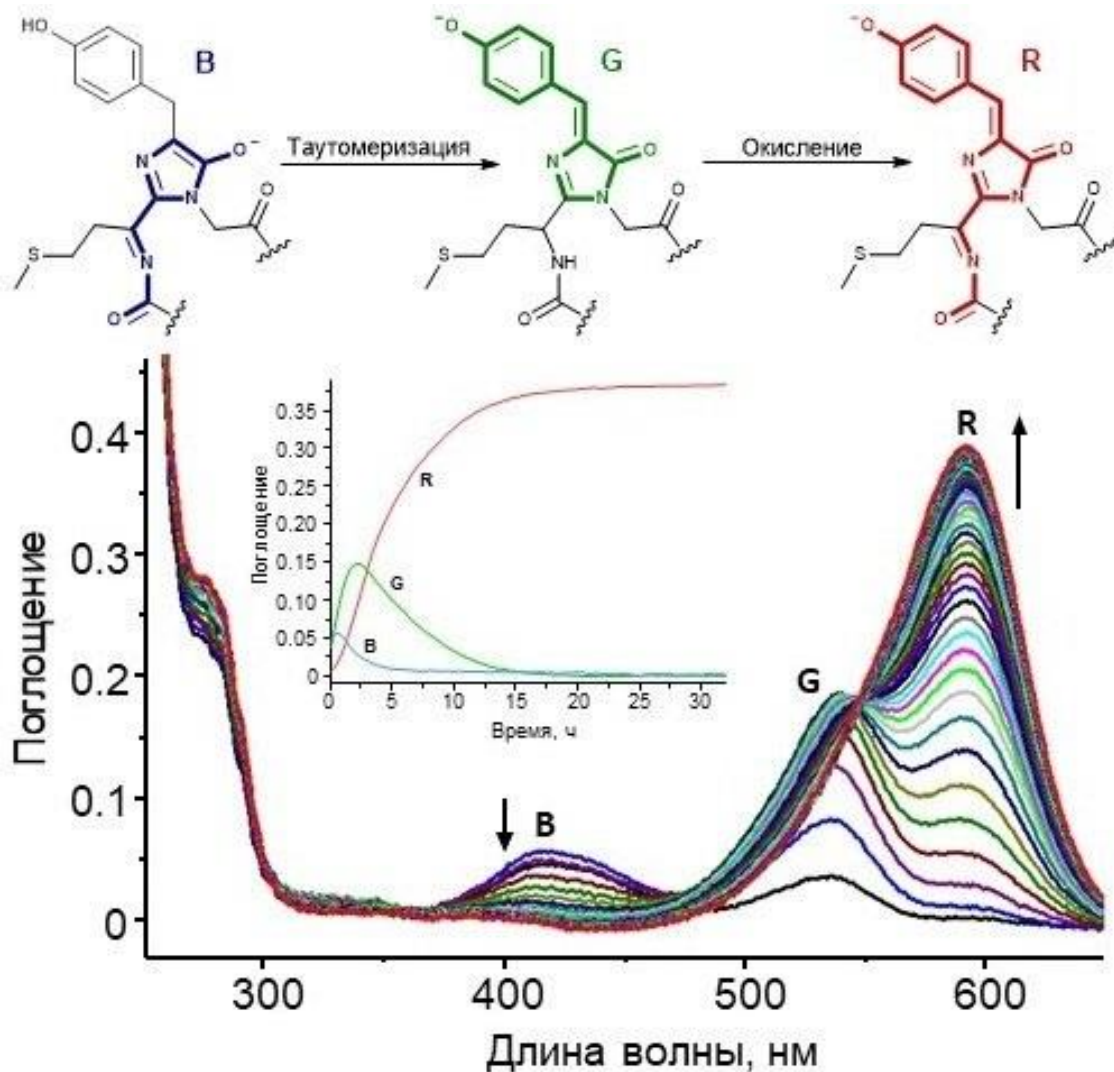


с цитоблокадой

Предложен принципиально новый подход, позволяющий существенно продлить время циркуляции наноагентов в кровотоке и, как следствие, увеличить их терапевтическую активность. Подход, названный «цитоблокадой мононуклеарной фагоцитарной системы» не требует какой-либо модификации наночастиц и заключается во введении в организм относительно небольшого количества антител против собственных эритроцитов. В результате иммунная система «сосредотачивается» на атаке на собственные эритроциты и на какое-то время «перестает видеть» вводимые наноматериалы, которые за это время способны найти целевые патогенные объекты и обеспечить терапевтическое действие.

- ❑ Важной характерной чертой данного подхода является его универсальность, т.е. независимость от природы, размера и других свойств используемых наночастиц [*Nat Biomed Eng.* 2020].
- ❑ Еще один разработанный подход к улучшению терапевтического эффекта наноагентов, идеологически близкий к упомянутому выше, состоит во введении в организм «инертных» наноагентов, вызывающих на себя атаку иммунной системы, и только потом наночастиц с лекарством [*J. Cont. Release.* 2020].

1. Zelepukin IV и др. (2020) Fast processes of nanoparticle blood clearance: Comprehensive study. *J Control Release* (ИФ 7.901)
2. Nikitin MP и др. (2020) Enhancement of the blood-circulation time and performance of nanomedicines via the forced clearance of erythrocytes. *Nat Biomed Eng* (ИФ 17.135)



В настоящее время считается, что синтез хромофора красных флуоресцентных белков проходит через промежуточную «синюю» форму с максимумом поглощения в районе 400 нм, которая непосредственно превращается в «красную» через образование двойной связи в боковой цепи хромофоробразующего остатка Tyr.

В настоящей работе на примере хромобелка из *Actinia equina* (aeCP) впервые показано, что синтез хромофора DsRed-типа может протекать через промежуточную «зеленую» форму с максимумом поглощения в районе 530 нм.

Пахомов А А и др. (2021) Превращения хромофора при созревании хромобелка из *Actinia equina*. *Биорг. химия* 47, № 1, (в печати)



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





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

ИФ 36,1

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

ИФ 62,8

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

ИФ 97,3

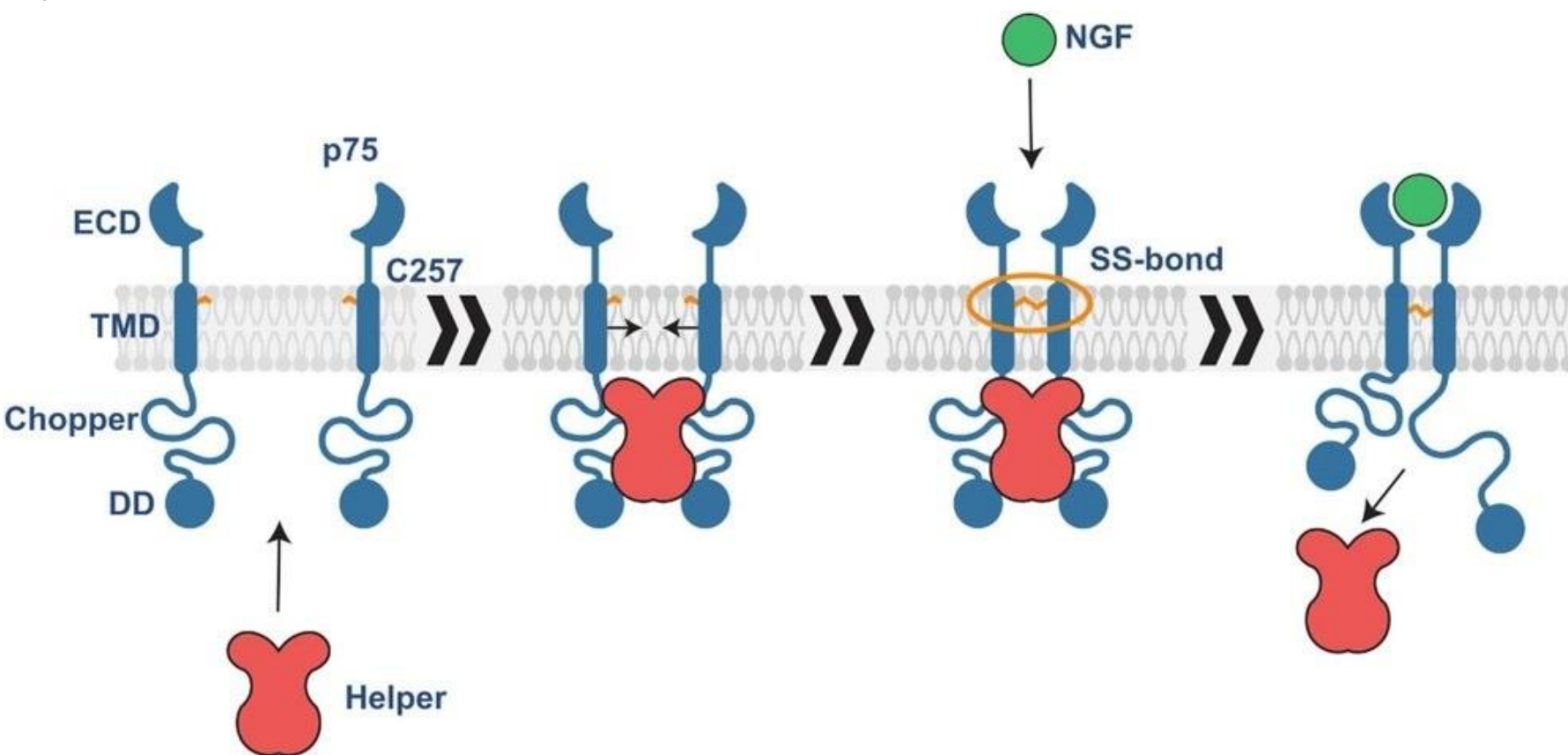
- **Лаборатория оптической микроскопии и спектроскопии биомолекул**
А.В. Феофанов

ИФ 29,8

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

ИФ 22,1

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



Рецепторы нейротрофинов, в том числе тропомиозиновые киназы и рецептор p75, регулируют жизненный цикл нейронов, участвуя в процессах нейрогенеза и развитии нейродегенеративных заболеваний.

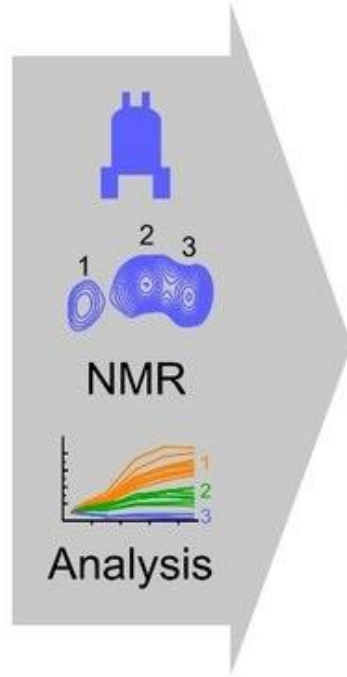
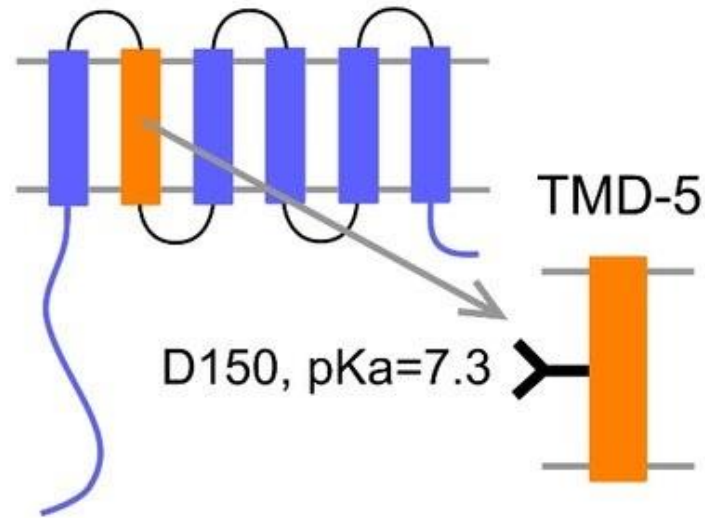
Сотрудники лаборатории ЯМР-спектроскопии совместно с коллегами из университета Валенсии изучили структуру и склонность к олигомеризации трансмембранных доменов (ТМД) рецептора TrkA, а также внутриклеточных доменов рецептора p75NTR.

Удалось определить пространственную структуру димера ТМД TrkA, а также показать, что внутриклеточные домены p75NTR не проявляют склонности к взаимодействию между собой.

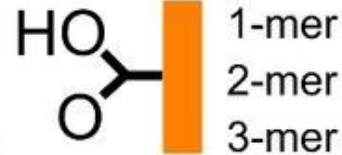
Полученные данные позволили сформулировать новые механизмы функционирования указанных рецепторов.

1. Goncharuk SA и др. (2020) Revising the mechanism of p75NTR activation: intrinsically monomeric state of death domains invokes the. *Sci Rep* (ИФ 3.998)
2. Franco ML и др. (2019) Structural basis of the transmembrane domain dimerization and rotation in the activation mechanism of the TRKA receptor by nerve growth factor. *J Biol Chem* (ИФ 4.238)

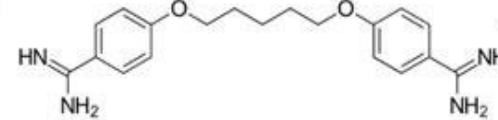
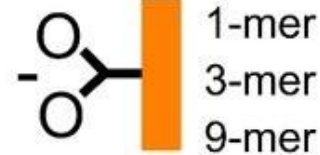
EBV Latent Membrane Protein 1



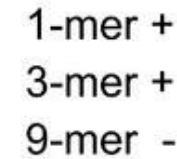
Neutral



Charged



Pentamidine



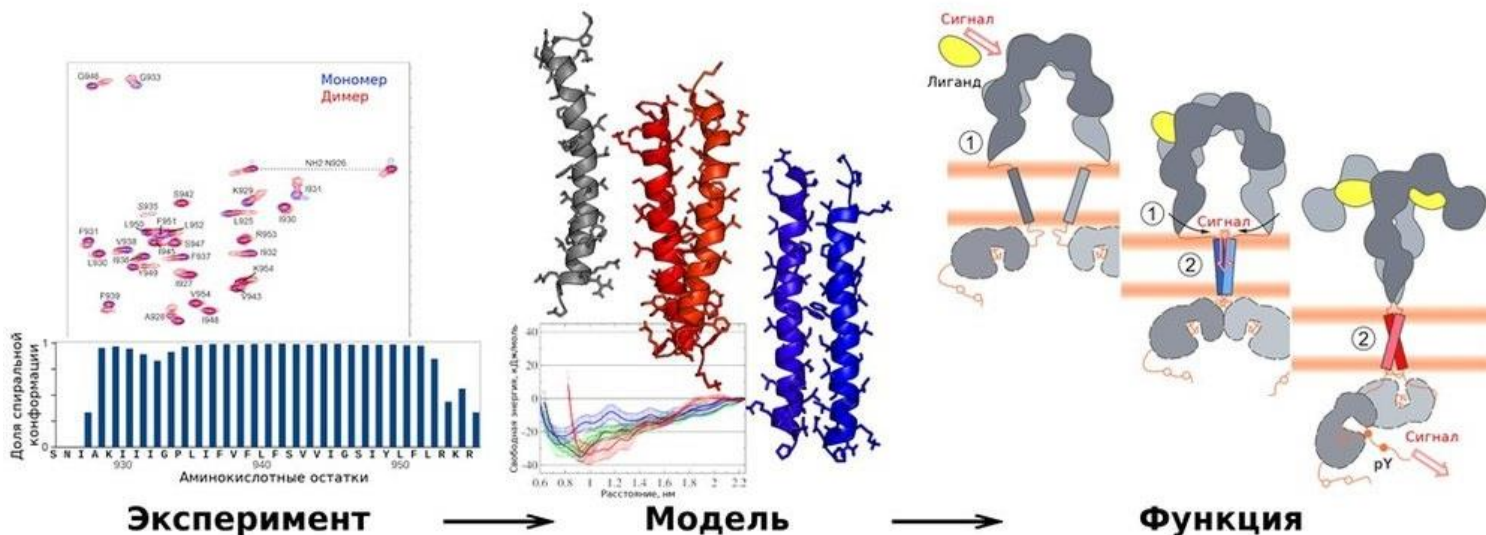
LMP1 – основной онкоген вируса Эпштейна-Барр. Встраиваясь в мембрану клеток, белок имитирует активное состояние рецептора CD40 и запускает трансформацию клеток в опухолевые. Активация LMP1 управляется его олигомеризацией.

Коллектив лаборатории биомолекулярной ЯМР-спектроскопии совместно с коллегами из Института прикладной химии г. Чанчунь, Китай, разработали подход для исследования олигомеризации трансмембранного домена LMP1. Этот подход был применен, для изучения механизмов ингибирования LMP1 низкомолекулярным соединением пентамидин.

Было показано, что пентамидин взаимодействует с остатком D150 в заряженном состоянии и нарушает олигомеризацию LMP1 высокого порядка.

Kot EF и др. (2020) Oligomerization analysis as a tool to elucidate the mechanism of EBV latent membrane protein 1 inhibition by pentamidine. *Biochim Biophys Acta* (3.411)

АНАЛИЗ КОНФОРМАЦИОННОЙ ДИНАМИКИ ДАЕТ НОВОЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЕ О РОЛИ ДИМЕРИЗАЦИИ ТРАНСМЕМБРАННЫХ ДОМЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ ИНСУЛИНА И ИНСУЛИН-ПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА (IGF-1R) В ИХ АКТИВАЦИИ



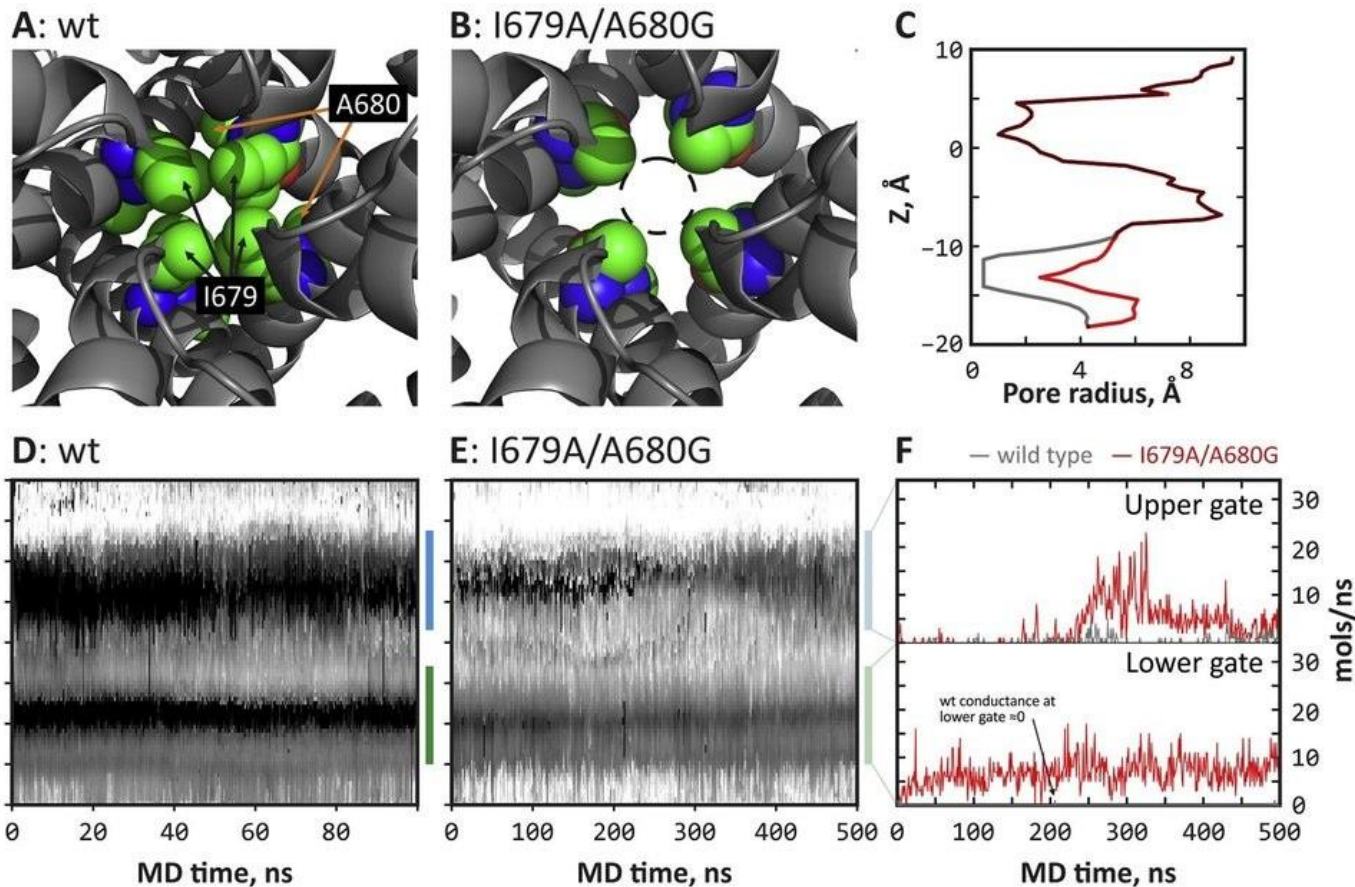
На основании данных молекулярного моделирования и ЯМР-спектроскопии предложены модели пространственной структуры димеров трансмембранных (ТМ) сегментов рецептора инсулина (IR) и в различных конформационных состояниях. С помощью методов молекулярной динамики в полноатомном и крупнозернистом приближении проведен анализ конформационной подвижности внеклеточного и внутриклеточного доменов IR в явно заданной мембране.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

- ❑ Процесс активации рецептора сопровождается сближением примембранных участков во внеклеточном домене, что вызывает димеризацию ТМ сегментов в активном состоянии.
- ❑ Внутриклеточный примембранный участок не влияет на поведение ТМ сегмента в мембране, свидетельствуя о возможности спонтанной димеризации ТМ доменов при активации.
- ❑ Предложен набор возможных конформаций димеров ТМ доменов IR и IGF-1R, с помощью расчётов свободной энергии димеризации в мембране выявлены их наиболее стабильные состояния.
- ❑ Для обоих белков найдены близкие структуры ТМ-димеров, что может указывать на похожий механизм активации рецепторов.

Kuznetsov AS и др. (2020) Dimeric states of transmembrane domains of insulin and IGF-1R receptors: Structures and possible role in activation. *Biochim Biophys Acta* (ИФ 3.411)

УПРАВЛЕНИЕ РАБОТОЙ ИОННОГО КАНАЛА TRPV1 ПУТЕМ ВНЕСЕНИЯ В ЕГО ПОРОВЫЙ И TRP-ДОМЕНЫ ТОЧЕЧНЫХ МУТАЦИЙ, ПРЕДСКАЗАННЫХ В РЕЗУЛЬТАТЕ РАЦИОНАЛЬНОГО ВЫЧИСЛИТЕЛЬНОГО ДИЗАЙНА

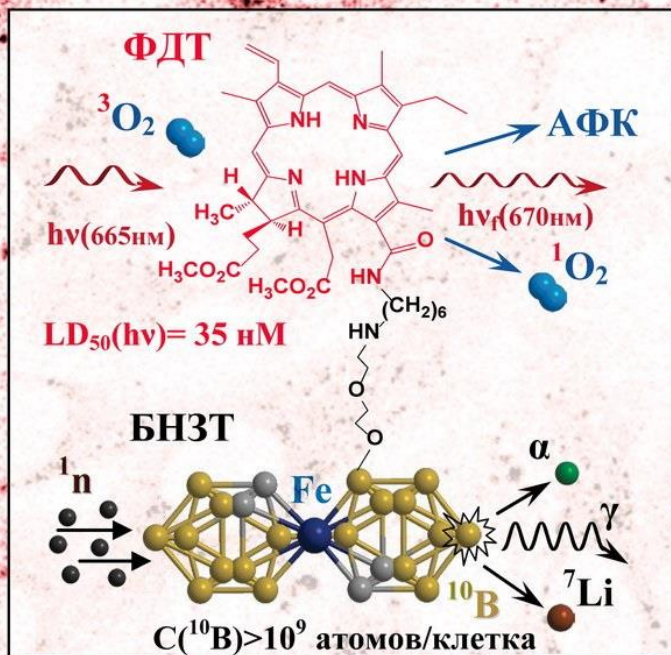


Функциональные эффекты новых точечных мутаций (G643A, I679A+A680G, K688G/P) в канале рецептора TRPV1, отвечающего за термочувствительность нейронов, предсказанные *in silico* как своеобразные “горячие точки”, ответственные за открытие канала, были изучены с использованием комплексного подхода, сочетающего молекулярное моделирование, биохимические и электрофизиологические методы. Основное внимание уделяли активации канала в ответ на изменение температуры и добавление капсаицина. Моделирование молекулярной динамики тетрамерного TRPV1 в липидном бислое позволило объяснить на атомистическом уровне результаты экспериментальных наблюдений.

Полученные данные позволяют лучше понять термическую и капсаицин-индуцированную активацию TRPV1, а также оценить параметры его проводимости.

Результаты исследования необходимы для понимания молекулярных механизмов терморегуляции и ноцицепции, а также для прогнозирования потенциально патогенных мутаций. Продемонстрирована эффективность предложенной универсальной вычислительной стратегии, позволяющей прогнозировать влияние точечных мутаций на различные аспекты функционирования мембранных каналов.

Lubova KI и др. (2020) Probing temperature and capsaicin-induced activation of TRPV1 channel via computationally guided point mutations in its pore and TRP domains. *Int J Biol Macromol* (ИФ 5.162)



Мы докладываем о свойствах конъюгата хлорина е6 с нанокластером бис(дикарболлида) железа, которые позволили сделать вывод о том, что данный конъюгат является перспективным тераностическим агентом для флуоресцентной диагностики, фотодинамической (ФДТ) и бор-нейтронно-захватной (БНЗТ) терапии опухолей.

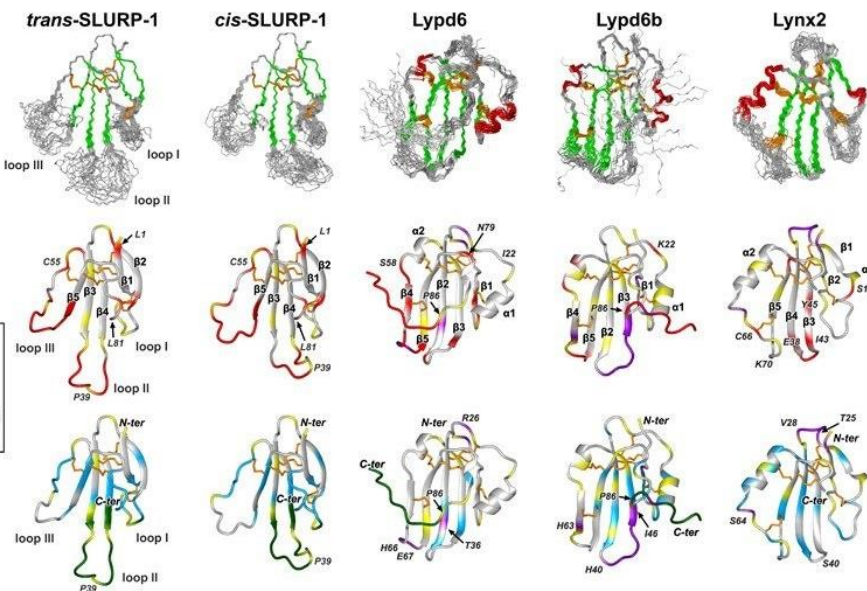
Этот вывод основан на наших данных, показывающих, что конъюгат (i) эффективно накапливается в клетках глиобластомы крысы С6, доставляя >10 атомов бора на клетку и тем самым удовлетворяя требованиям к агентам для БНЗТ, (ii) обладает яркой (за счет высокого внутриклеточного накопления) красной флуоресценцией в клетках, (iii) обеспечивает фотоиндуцированную 50% гибель клеток С6 при $35 \pm 3 \text{ нМ}$, (iv) не токсичен для клеток без активирующего стимула.

Ignatova AA и др. (2020) Conjugate of chlorin e6 with iron bis(dicarbollide) nanocluster: synthesis and biological properties. *Future Med Chem* (ИФ 3.607)

Исследования проведены совместно со специалистами

- Института тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова МИРЭА - Российского технологического университета (Ю.С. Коростей, М.К. Федотова, А.Ф. Миронов, М.А. Грин) и
- Института элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова Российской академии наук (И.Б. Сиваев, В.И. Брегадзе)

ОПРЕДЕЛЕНА СТРУКТУРА И ИЗУЧЕНА ДИНАМИКА ЧЕТЫРЕХ ТРЕХПЕТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДАМИ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ



Int J Mol Sci,
Q1, IF 4.556
Биоорг.Химия
Q4, IF 0.68

ps-ns motions
■ $S^2 < 0.8$
■ No data
 μs-ms-s motions
■ $R_{EX} > 3 \text{ s}^{-1}$ ■ Duplicated H^N
■ Broad H^N signals
■ β-strand ■ S-S-bond
■ α- or 3_{10} -helix

Трехпетельные белки, имеющие характерное строение, включающее Cys-стабилизированное β-структурное ядро и три протяженные петли, встречаются у многих представителей позвоночных, а также обнаружены у членистоногих и иглокожих. Наиболее изученными представителями этих белков являются токсины из яда змей. Особый интерес вызывают представители этого семейства, присутствующие у высших млекопитающих, в том числе человека, и выполняющие роль модуляторов никотиновых ацетилхолиновых рецепторов (nAChR).

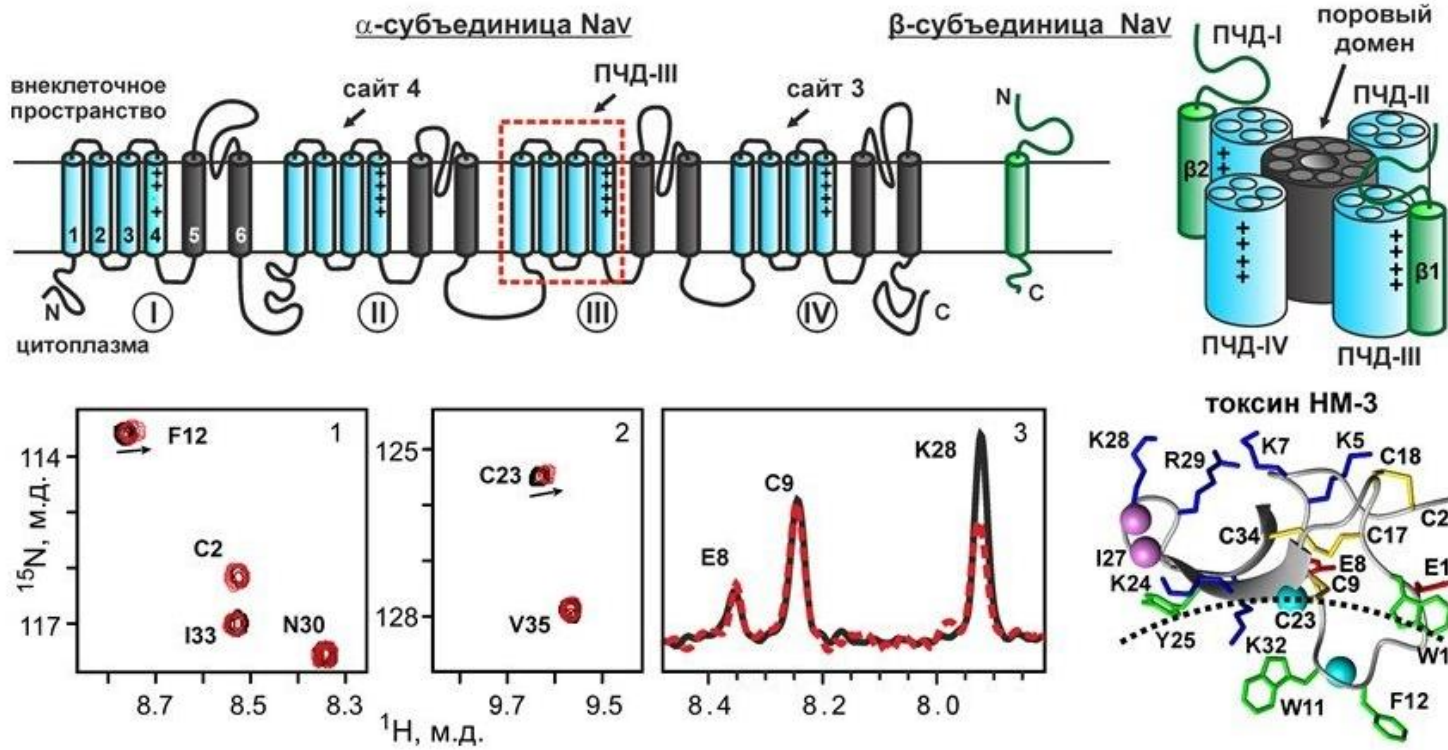
Методами ЯМР был проведён комплексный анализ структурных и динамических свойств ряда «трехпетельных» белков человека, действующих на nAChR. Среди них были представлены как водорастворимые белки (SLURP-1, SLURP-2), так и изолированные трехпетельные LU-домены GPI-заякоренных белков (Lypd6, Lypd6b, Lynx1, Lynx2), а также нейротоксины змей («слабый» токсин WTX и нейротоксин NTII). Для части белков трёхмерная структура и динамика была определена впервые (SLURP-1, Lypd6, Lypd6b, Lynx2).

Были обнаружены два типа топологии β-структуры: один широкий β-лист для Lypd6 и Lypd6b и два β-слоя для остальных белков. α-Спиральные сегменты, которые до этого редко наблюдались для трехпетельных белков, были обнаружены в I и III петлях Lypd6, Lypd6b и Lynx2. Показана зависимость способа взаимодействия модулятора с рецептором от особенностей пространственного строения, таких как распределение заряженных и гидрофобных остатков на поверхности. Показана значительная конформационная пластичность трехпетельных белков: петли были очень мобильными в пикосекундно-наносекундном диапазоне времен, в то время как β-структурные области демонстрировали движения в масштабах микросекунды-миллисекунды. Предположительно, пластичность может быть важной особенностью трехпетельных белков человека.

Paramonov AS и др. (2020) Structural Diversity and Dynamics of Human Three-Finger Proteins Acting on Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Int J Mol Sci* (ИФ 4.556)

Исследования проведены совместно со специалистами
 • Биофака МГУ

ВПЕРВЫЕ ОБНАРУЖЕН ТОКСИН-СВЯЗЫВАЮЩИЙ САЙТ В ПОТЕНЦИАЛ-ЧУВСТВИТЕЛЬНОМ ДОМЕНЕ III КАНАЛА Nav1.4 ЧЕЛОВЕКА



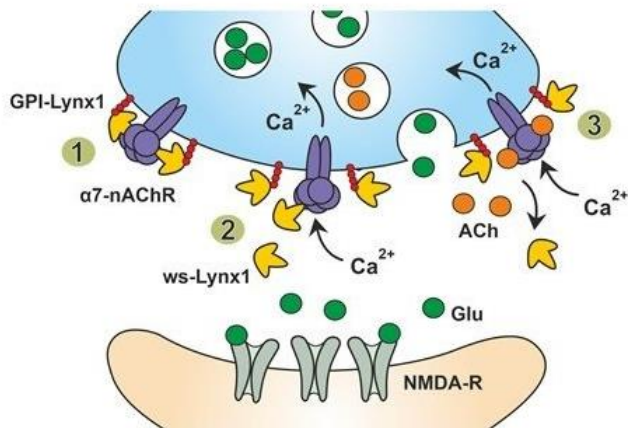
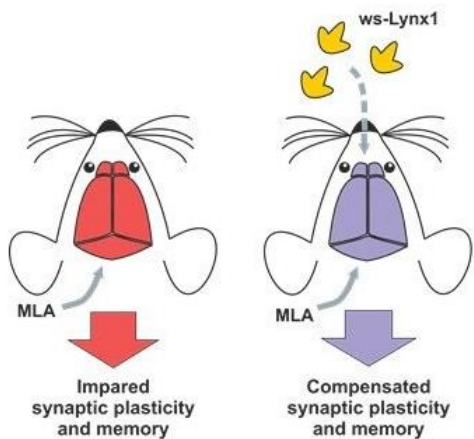
Изучение взаимодействия ионных каналов с лигандами, модулирующими их активность, крайне важно с точки зрения понимания механизмов функционирования и разработки новых лекарственных средств для лечения заболеваний, связанных с различными каналопатиями.

- ❑ Методами ЯМР-спектроскопии проведено исследование взаимодействия потенциал-чувствительного домена из третьей субъединицы Na⁺ канала человека Nav1.4 (ПЧД-III) с токсином Hm-3 из яда паука.
- ❑ Несмотря на то, что ранее не предполагалось наличия сайта связывания токсина на этом домене из-за взаимодействия домена с бета-субъединицей канала, нами впервые обнаружено наличие такого сайта, а также оценена энергетика взаимодействия токсин/домен.
- ❑ Показано, что аффинность Hm-3 к ПЧД-III выше, чем для «канонических» сайтов связывания на втором и первом домене канала.

Мышкин и др. *Acta Naturae* (2021) в печати.

В сотрудничестве с
• Биофаком МГУ

ВОДОРАСТВОРИМЫЙ ВАРИАНТ БЕЛКА ЧЕЛОВЕКА LYNX1 ПОЛОЖИТЕЛЬНО ВЛИЯЕТ НА СИНАПТИЧЕСКУЮ ПЛАСТИЧНОСТЬ И ВОССТАНАВЛИВАЕТ КОГНИТИВНЫЕ НАРУШЕНИЯ, СВЯЗАННЫЕ С ДИСФУНКЦИЕЙ $\alpha 7$ -nAChR



Lynx1 – это GPI-заякоренный белок, солокализованный с никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами (nAChR) в областях мозга, важных для обучения и памяти. Ранее мы показали, что при низких микромолярных концентрациях водорастворимый вариант Lynx1, лишенный GPI-якоря (ws-Lynx1), действует на $\alpha 7$ -nAChR как положительный аллостерический модулятор. Мы предположили, что ws-Lynx1 может быть использован для улучшения когнитивных процессов, зависящих от nAChR. В представленной работе мы показали, что 2 мкМ ws-Lynx1 увеличивает вызванный ацетилхолином ток на $\alpha 7$ -nAChR в интернейронах L1 первичной зрительной коры крыс. При более высоких концентрациях ws-Lynx1 ингибирует $\alpha 7$ -nAChR, экспрессированные в ооцитах *X. laevis*, с $IC_{50} \sim 50$ мкМ.

Показана способность ws-Lynx1 проникать через гематоэнцефалический барьер при интраназальном введении у мышей линии C57BL/6 и накапливаться в коре головного мозга, гиппокампе и мозжечке. Длительный прием ws-Lynx1 предотвращает ухудшение обонятельной памяти и моторного обучения, вызванных ингибитором $\alpha 7$ -nAChR метилликаконитином (MLA). Прием ws-Lynx1 также стимулировал долговременную потенциацию в срезах гиппокампа мышей, принимающих препарат, и отменял блокаду долговременной потенциации, наблюдающуюся при приеме MLA.

Чтобы понять механизм действия ws-Lynx1, мы изучили взаимодействие ws-Lynx1 и MLA по отношению к $\alpha 7$ -nAChR, измерили базальные концентрации эндогенного Lynx1 и $\alpha 7$ -nAChR и их ассоциацию в мозге мыши. Мы предположили, что во взрослом мозге эндогенный Lynx1 ограничивает активацию $\alpha 7$ -nAChR. При этом, ws-Lynx1 может частично вытеснять эндогенный Lynx1, вызывая тем самым положительную модуляцию $\alpha 7$ -nAChR и повышение синаптической пластичности. Ws-Lynx1 и подобные соединения могут быть полезны для лечения когнитивных нарушений, связанных с дисфункцией холинергической системы.

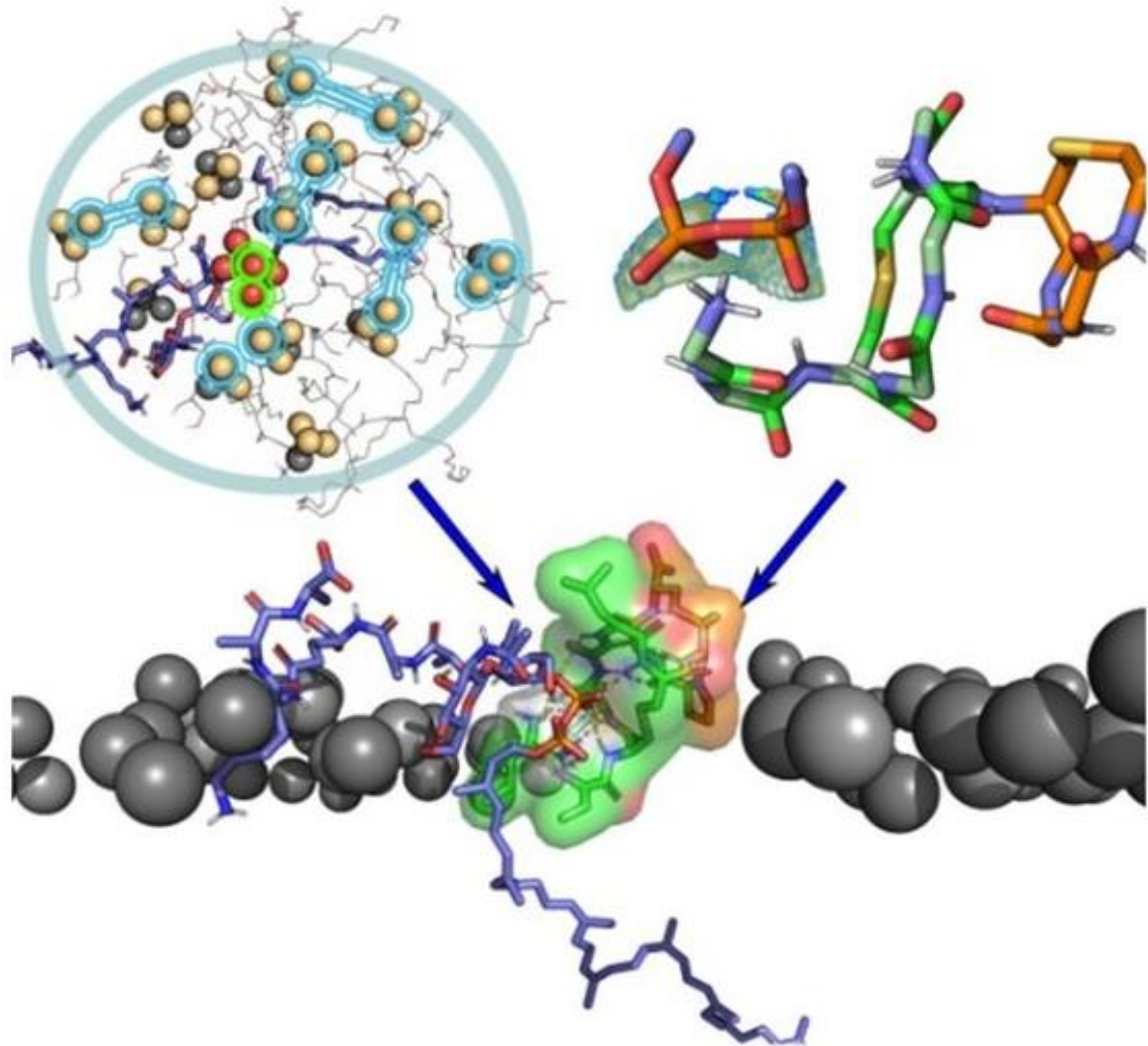
Shenkarev ZO и др. (2020) Water-Soluble Variant of Human Lynx1 Positively Modulates Synaptic Plasticity and Ameliorates Cognitive Impairment Associated with $\alpha 7$ -nAChR Dysfunction. *J Neurochem* (ИФ 4.066)

Получен Патент РФ RU2734649C1
Подана заявка РТС

В сотрудничестве с

- ИВНД РАН
- Институтом биомедицинских проблем РАН
- Биофаком МГУ

МОДЕЛЬ ПИРОФОСФАТНОГО ФАРМАКОФОРА: КАК НИЗИН СВЯЗЫВАЕТ ЛИПИД II



С помощью компьютерного моделирования молекулярной динамики было установлено, что в основе их высокоселективного взаимодействия лежит способность пирофосфатной группы липида II формировать уникальный фармакофор на поверхности бислоя, состоящий из двух атомов кислорода из соседних фосфатных остатков, разделенных характерным расстоянием 3 Å. Этот фармакофор не может быть образован фосфолипидами мембраны и при этом он хорошо подходит для образования целого кластера водородных связей со стороны амидных групп антимикробного пептида низина, что и лежит в основе селективного связывания.

Мы показали, что взаимное молекулярное распознавание происходит по механизму индуцированного соответствия и зависит от свойств окружающей среды. Так, среди конформационных ансамблей обоих партнеров было найдено всего одно-два состояния, подходящих для образования комплекса. Эти результаты могут быть полезны для разработки новых антибиотиков на основе низина.

Эта работа продолжает [наше исследование про особенности липида II](#), позволяющие назвать его «Ахиллесовой пятой» мембраны бактерий. Подробнее о нашей работе пишет научно-популярный [журнал «За науку»](#).

Panina I и др. (2020) Environmental and dynamic effects explain how nisin captures membrane-bound lipid II. *Sci Rep* (ИФ 3.998)



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





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

ИФ 14,1

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

ИФ 12,8

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

ИФ 27,5

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

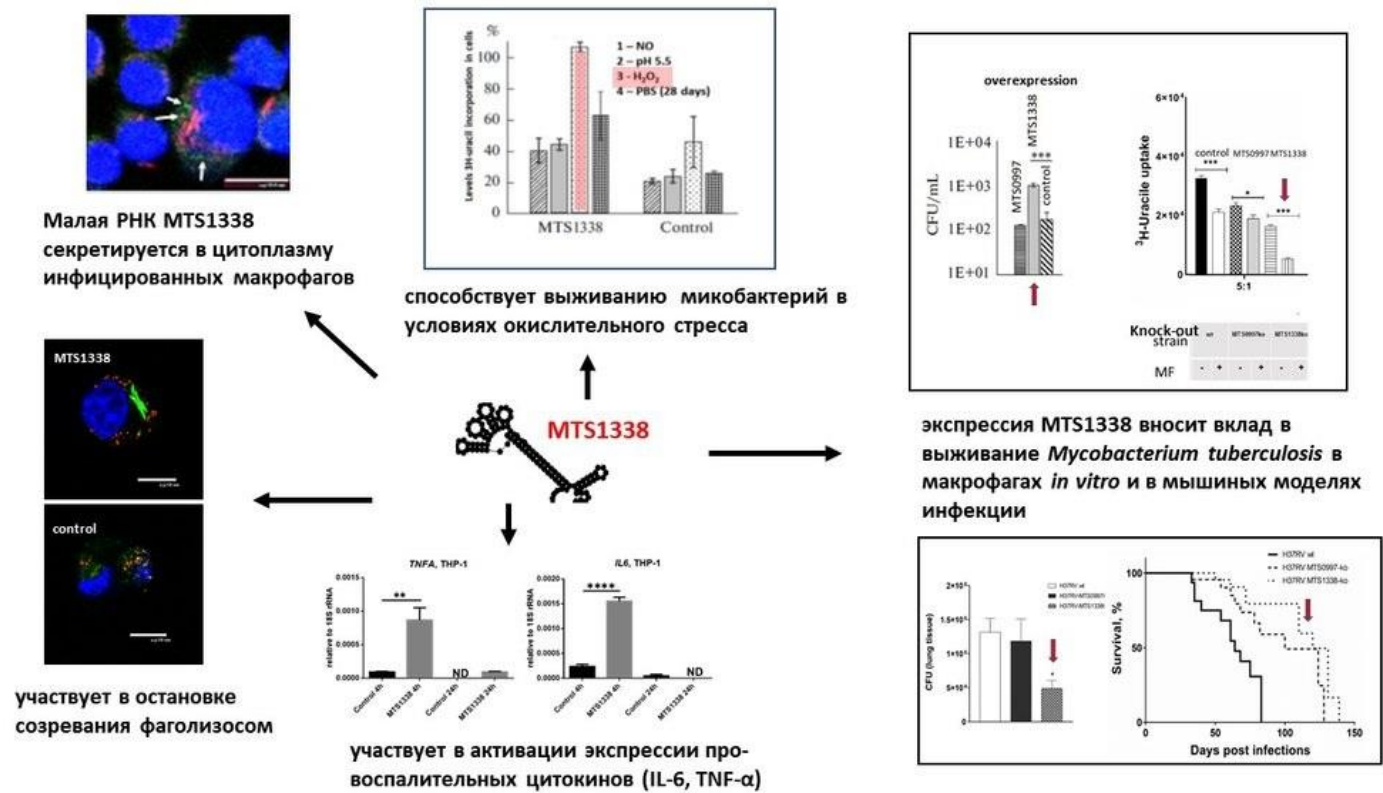
ИФ 63,9

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

ИФ 18,7

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

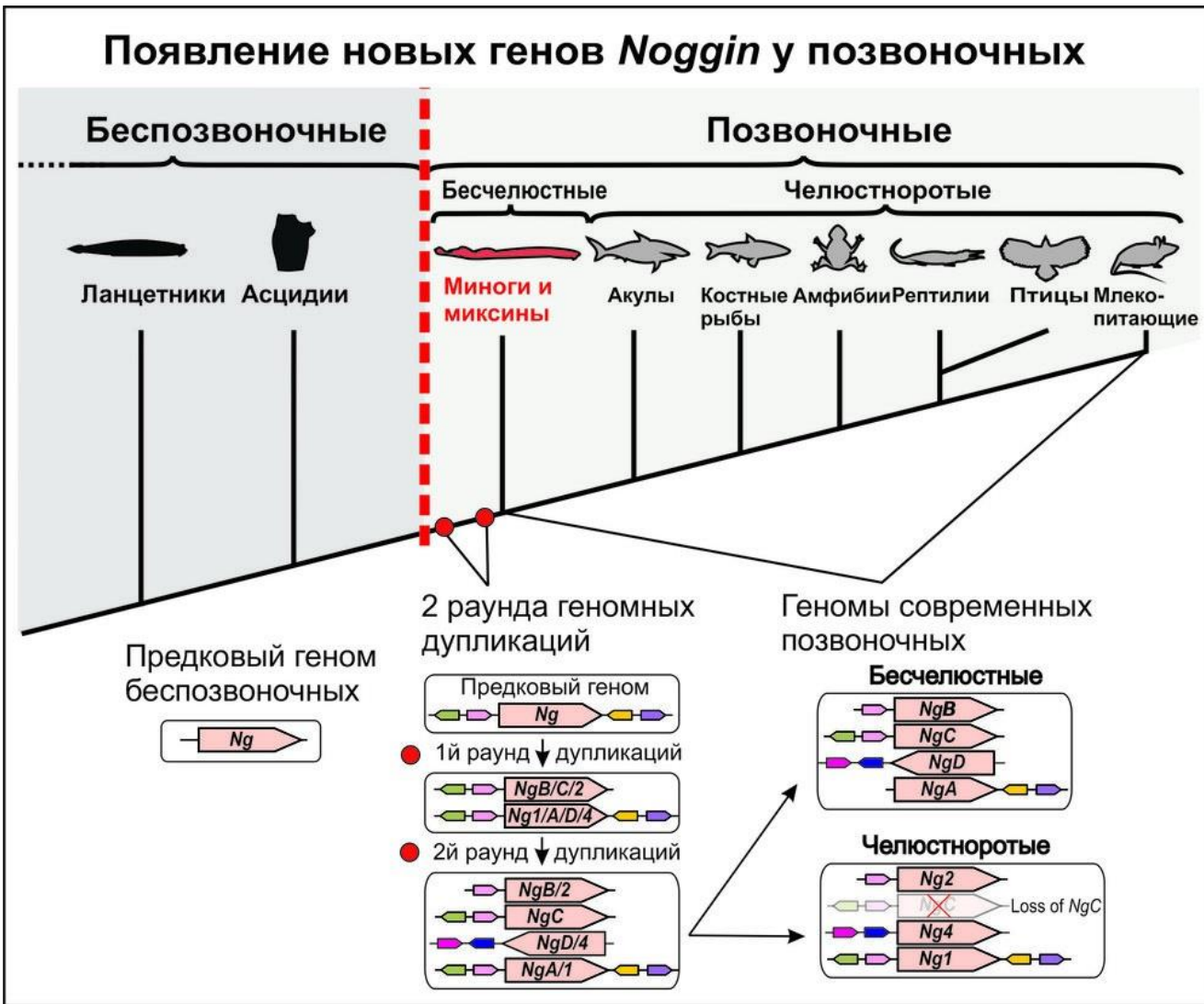
МАЛАЯ НЕКОДИРУЮЩАЯ РНК *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* MTS1338 – БАКТЕРИАЛЬНЫЙ ФАКТОР ВИРУЛЕНТНОСТИ, МОДУЛИРУЮЩИЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПРИ ИНФЕКЦИИ



- ❑ Малая некодирующая РНК MTS1338 присутствует только в геномах патогенных микобактерий туберкулезного комплекса и высоко экспрессируется при инфекции макрофагов.
- ❑ Мы показали, что MTS1338 обеспечивает сопротивляемость микобактерий к окислительному стрессу, замедляет созревание фаголизосом при инфекции макрофагов и моделирует иммунный ответ, активируя синтез провоспалительных цитокинов.
- ❑ Созданные мутантные штаммы с делетированным геном MTS1338 демонстрировали существенное снижение вирулентности *M. tuberculosis* при инфекции мышей.
- ❑ Таким образом, малая некодирующая РНК MTS1338 – новый фактор вирулентности *M. tuberculosis*, обеспечивающий внутриклеточное выживание микобактерий.

1. Bychenko OS и др. (2020) Use of Genetically Encoded Fluorescent Aptamers for Visualization of Mycobacterium tuberculosis Small RNA MTS1338 in Infected Macrophages. **Dokl Biochem Biophys (ИФ 0.672)**
2. Ostriк AA и др. (2020) Small RNAs of Mycobacterium tuberculosis in Adaptation to Host-Like Stress Conditions in vitro. **Appl Biochem Micro+ (ИФ 1.022)**
3. Salina EG и др. (2019) MTS1338, A Small Mycobacterium tuberculosis RNA, Regulates Transcriptional Shifts Consistent With Bacterial Adaptation for Entering Into Dormancy and Survival Within Host Macrophages. **Front Cell Infect Microbiol (ИФ 4.123)**

ОТКРЫТИЕ ЧЕТЫРЕХ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА *NOGGIN* У МИНОГ СОГЛАСУЕТСЯ С ГИПОТЕЗОЙ О ДВУХ РАУНДАХ ГЕНОМНЫХ ДУПЛИКАЦИЙ У ПРЕДКОВ ПОЗВОНОЧНЫХ

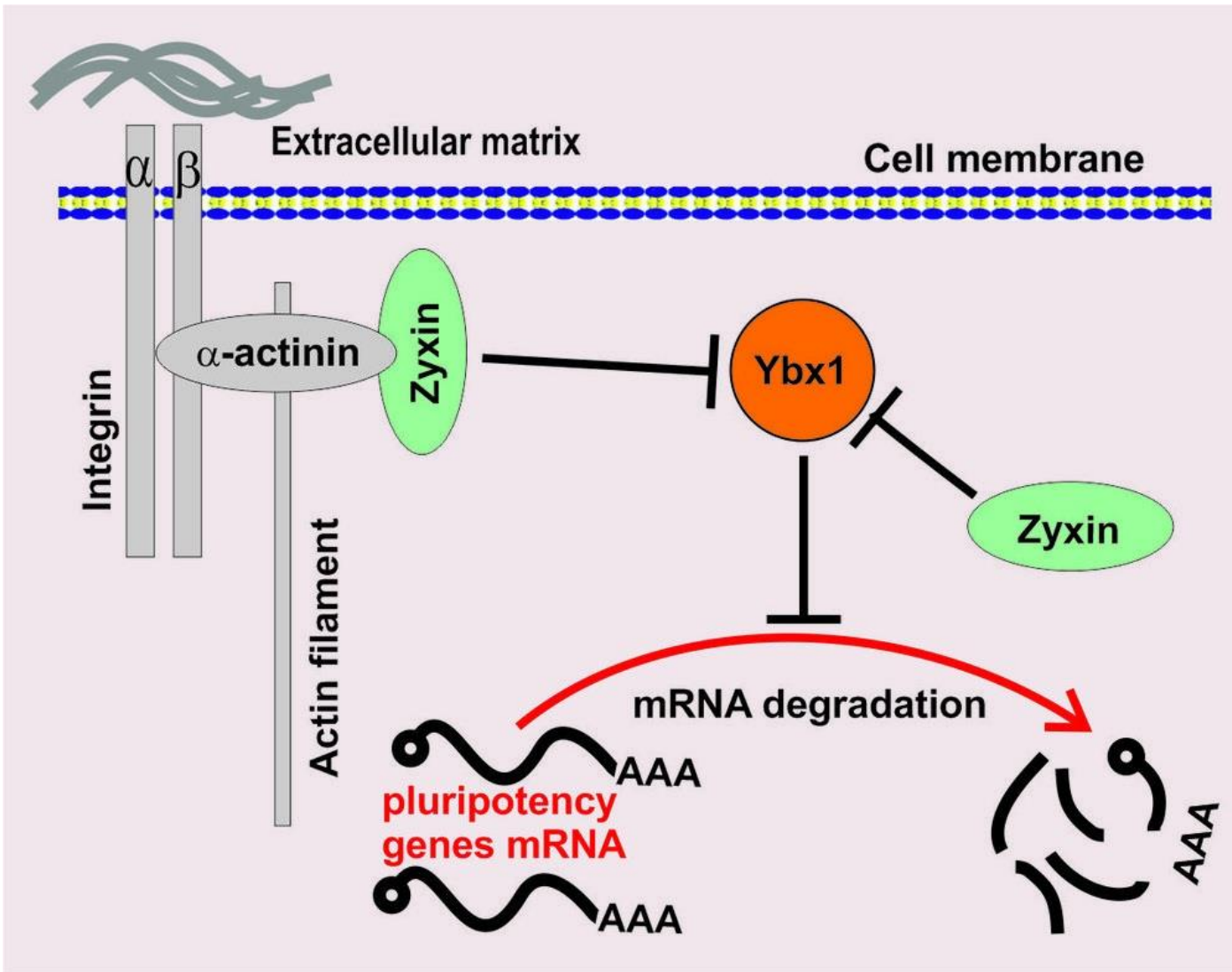


Сотрудники Лаборатории молекулярных основ эмбриогенеза в сотрудничестве с коллегой из ИПЭЭ им. Северцова, впервые описали четыре гена семейства *Noggin* у древнейших представителей позвоночных - миног и провели сравнение их структуры, экспрессии и особенностей функционирования с таковыми известных генов данного семейства у других позвоночных.

Гены *Noggin* кодируют секретлируемые факторы, регулирующие многие важные процессы в эмбриогенезе.

В результате был сделан вывод о том, что вся совокупность полученных данные в наилучшей степени согласуется с гипотезой о двух последовательных раундах дупликации предкового генома беспозвоночных, произошедших на самом раннем этапе эволюции позвоночных, т.е. около 550 млн лет назад, в палеозойскую эру.

Ermakova GV и др. (2020) Publisher Correction: Discovery of four *Noggin* genes in lampreys suggests two rounds of ancient genome duplication. *Communications Biology* (ИФ 4.165)

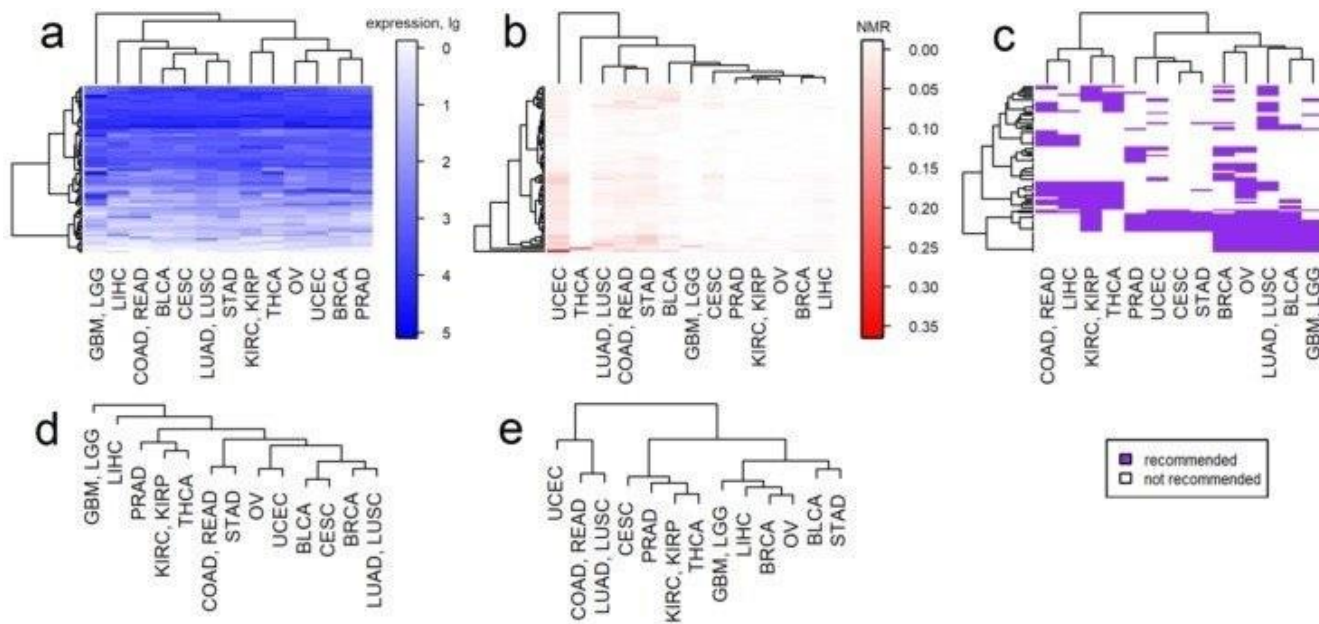


Сотрудники лаборатории молекулярных основ эмбриогенеза ИБХ РАН в техническом сотрудничестве с коллегами из отдела метаболизма и редокс-биологии ИБХ РАН, лаборатории геномики и эпигеномики позвоночных ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, а также группы клеточной подвижности Института белка РАН, открыли не известный ранее механизм регуляции активности генов, определяющих плюрипотентный статус эмбриональных стволовых клеток.

Данный механизм основан на способности цитоскелетного белка Zyxin вытеснять мРНК генов плюрипотентности из комплексов с мРНК-стабилизирующим белком Ybx1, что ускоряет деградацию этих мРНК.

Авторы предполагают, что этот механизм помогает координировать процессы морфогенеза и клеточной дифференцировки в эмбриогенезе.

Parshina EA и др. (2020) Cytoskeletal Protein Zyxin Inhibits the Activity of Genes Responsible for Embryonic Stem Cell Status. *Cell Rep* (ИФ 8.109)



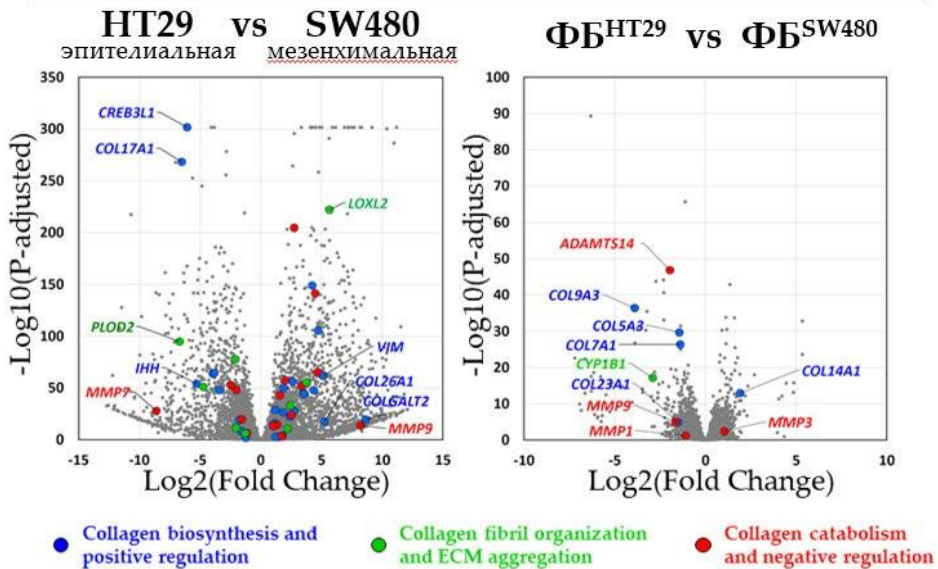
Мы провели первое исследование соответствия репертуара используемых противораковых препаратов реальной внутригрупповой гетерогенности в опухолях. Для этого были взяты 4980 образцов тканей, представляющих 13 наиболее распространенных видов рака у человека, для которых были доступны полноэкзомные мутационные и полнотранскриптомные профили. Сначала исследовали гипотезу, соотносится ли количество одобренных препаратов (в проекции на их молекулярные мишени) с размером внутригрупповой гетерогенности для каждого вида рака: как по всем генам, так и только по генам молекулярных мишеней препаратов. Оказалось, что связи между реальной молекулярной гетерогенностью и богатством спектра одобренных препаратов нет: ни на уровне транскриптомных, ни на уровне мутационных данных. Затем сравнили качественные характеристики: насколько режимы лечения разных видов рака в части используемых препаратов отражают молекулярные профили соответствующих опухолей.

- ❑ Впервые обнаружено сходство классификации опухолей по режимами лечения с классификацией по профилям генной экспрессии, но не по мутационным профилям.
- ❑ Наилучшим образом молекулярным профилям соответствовали методы лечения рака почки, желудка, мочевого пузыря, яичников и эндометрия. Хуже всего – опухолей мозга, рака простаты и толстой кишки.

Zolotovskaia MA и др. (2020) Disparity between Inter-Patient Molecular Heterogeneity and Repertoires of Target Drugs Used for Different Types of Cancer in Clinical Oncology. *Int J Mol Sci* (ИФ 4.556)

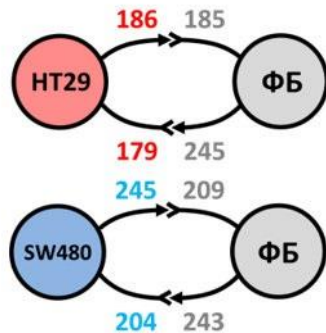
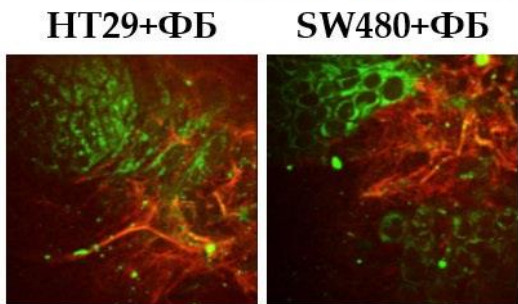
ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМ ПЕРЕХОДОМ (ЭМП), В КЛЕТКАХ РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ ОПРЕДЕЛЯЕТ АКТИВАЦИЮ ФИБРОБЛАСТОВ И РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ КОЛЛАГЕНА

Дифференциальная экспрессия генов в ко-культивируемых клетках



Структура **коллагенового матрикса** в ко-культурах **раковых клеток** и **фибробластов**

Возможные **лиганд-рецепторные взаимодействия** в ко-культурах



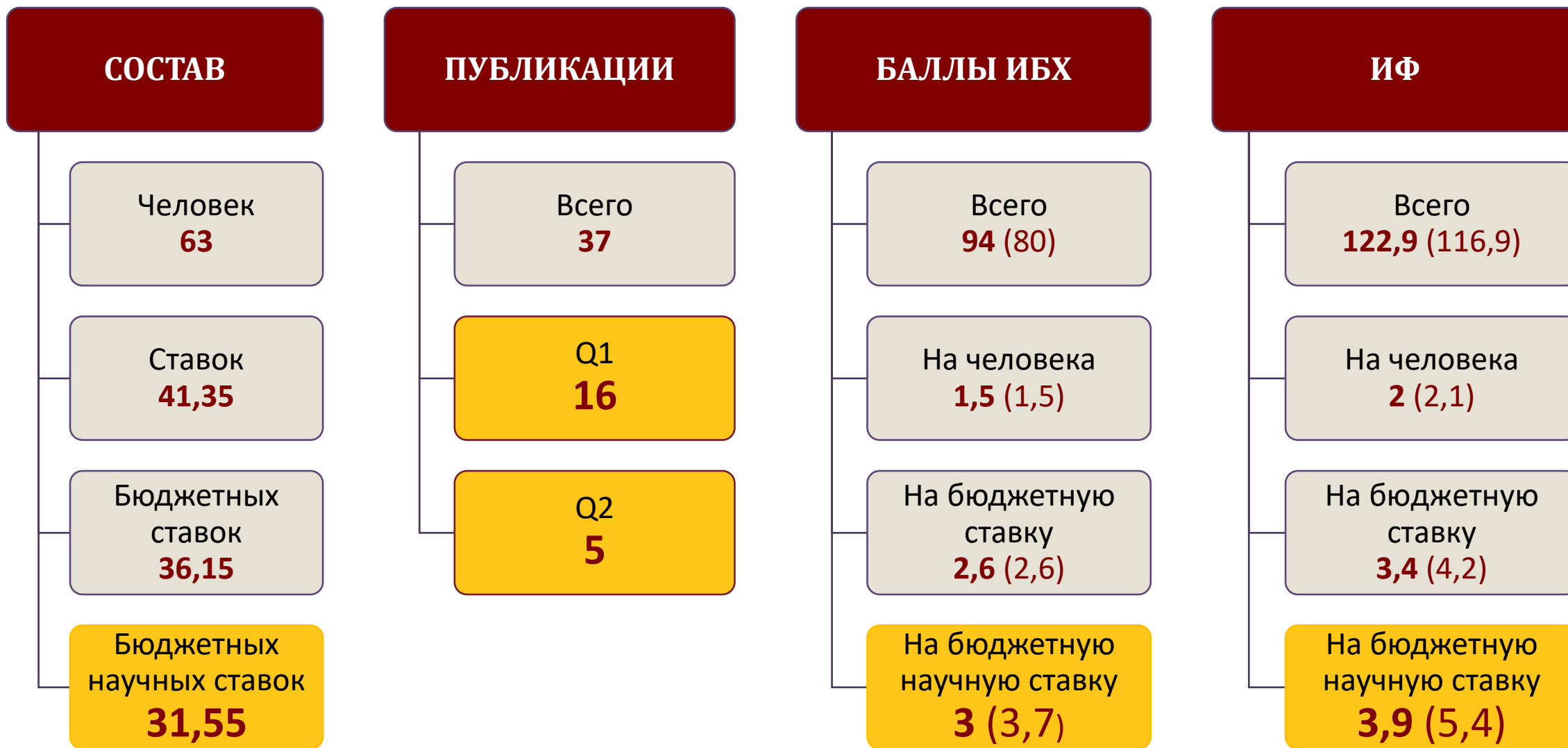
Перестройка структуры коллагена тесно связана с прогрессией раковых опухолей. Хотя она осуществляется, в первую очередь, опухоль-ассоциированными фибробластами, вклад разных клеточных компонентов в этот процесс изучен недостаточно. Мы исследовали связь между ЭМП состоянием раковых клеток, их способностью активировать нормальные фибробласты и ремоделировать внеклеточный матрикс. Используя иммунофлуоресцентный анализ, РНК-секвенирование (RNA-seq) и микроскопию генерации второй гармоники (ГВГ), мы впервые описали одновременные изменения фенотипической, транскриптомной и ремоделирующей активностей в фибробластах и раковых клетках при их совместной культивации *in vitro* и *in vivo*, а также корреляцию этих изменений с фенотипом раковых клеток. При ко-культивации наблюдалось изменение экспрессии многих генов, сопровождающееся активацией фибробластов и перестройкой коллагенового матрикса. Определены возможные лиганд-рецепторные взаимодействия между фибробластами и раковыми клетками.

Работа выполнена совместно с НИИ экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ПИМУ.

1. Druzhkova I и др. (2020) Expression of EMT-Related Genes in Hybrid E/M Colorectal Cancer Cells Determines Fibroblast Activation and Collagen Remodeling. *Int J Mol Sci* (ИФ 4.556)
2. Alekseenko IV и др. (2020) Are Synapse-Like Structures a Possible Way for Crosstalk of Cancer with Its Microenvironment? *Cancers (Basel)* (ИФ 6.126)



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





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

ИФ 48,9

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

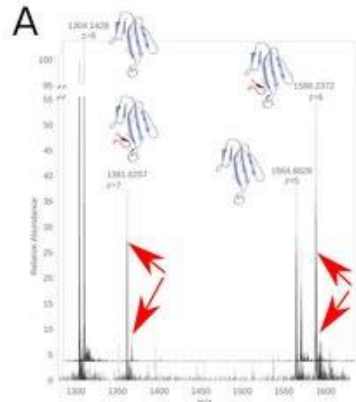
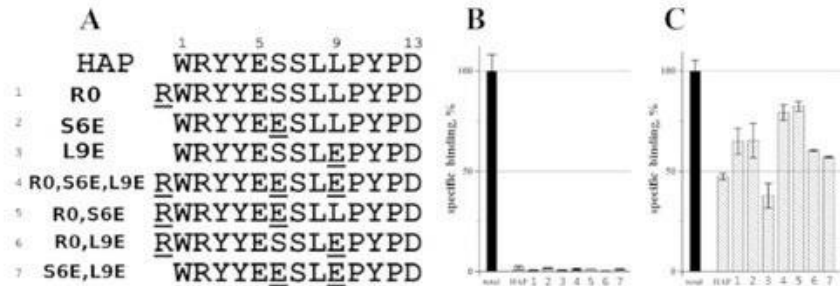
ИФ 68,4

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

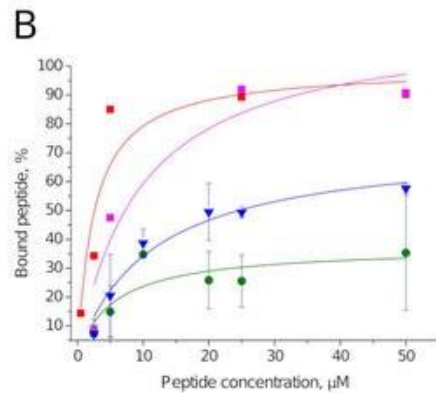
ИФ 23,6

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

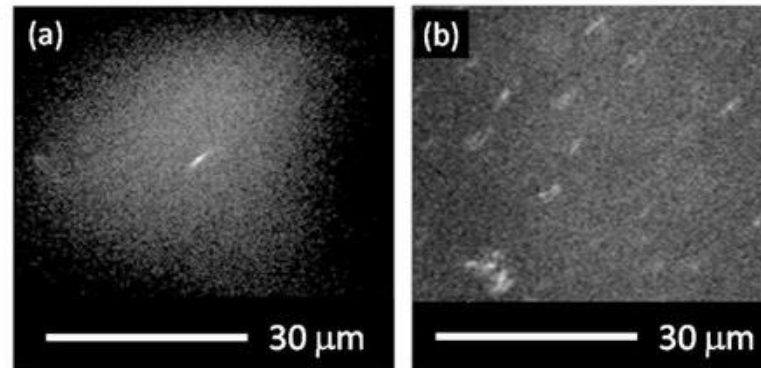
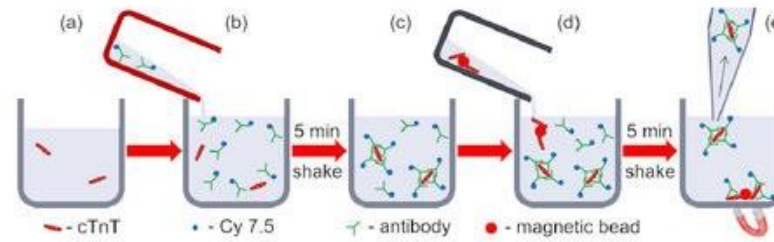
Различия в сродстве HAP и его аналогов к α -бунгаро- и α -кобратоксину



MS-детекция HAP-токсинных комплексов и определение K_d



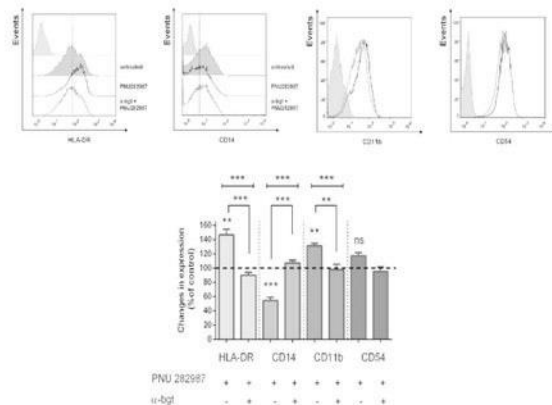
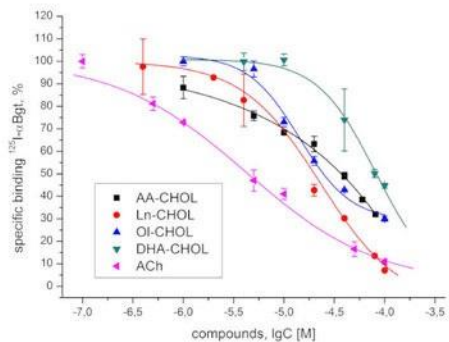
Приготовление флуоресцентного тропонина



1 pg/ml
100 pg/ml
Детекция флуоресцентного тропонина

Применение радиолигандного анализа, электрофизиологии и флуоресценции в анализе токсин-рецепторных взаимодействий было расширено использованием гель-хроматографии комплексов в сочетании с масс-спектрометрией для определения констант взаимодействия, а также привлечением ведущих отечественных спектроскопистов, что позволило детально охарактеризовать связывание нейротоксинов с пептидами, моделирующими активный центр рецептора [1], а также добиться детекции в плазме крови тропонина (индикатора заболеваний сердца) в уникально низкой концентрации 1 pg/ml [2].

1. Melentiev PN и др. (2020) Ultrafast, Ultrasensitive Detection and Imaging of Single Cardiac Troponin-T Molecules. *ACS Sens* (7.333)
2. Tsetlin VI и др. (2020) Three-finger proteins from snakes and humans acting on nicotinic receptors: old and new. *J Neurochem* (4.066)



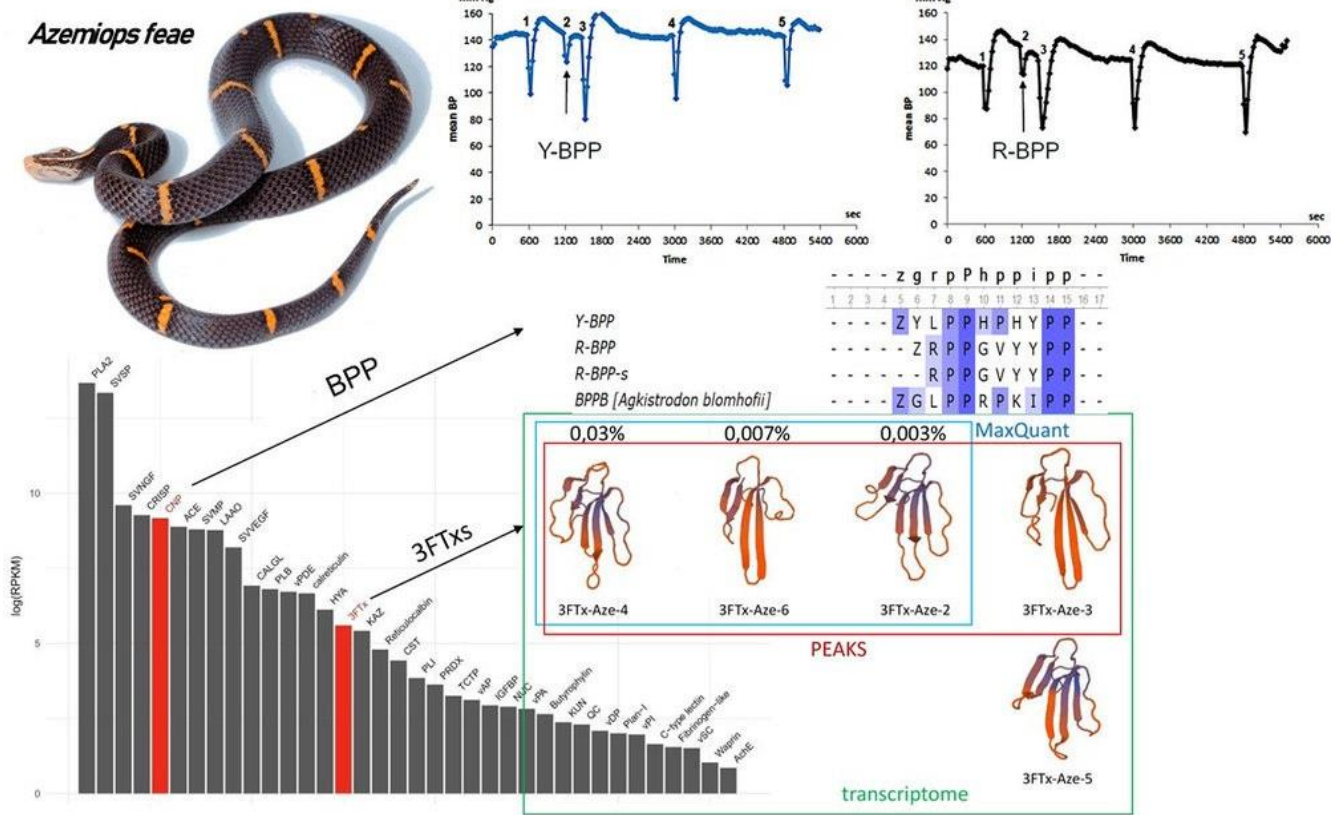
Репрезентативный профиль экспрессии HLA-DR, CD54, CD11b и CD14 на первичных человеческих макрофагах при активации $\alpha 7$ nAChR

- Впервые установлено, что эндогенные аналоги ацетилхолина, в которых ацетильная группа замещена на ненасыщенные жирные кислоты, являются модуляторами ацетилхолиновой системы, способными ингибировать мышечные и нейрональные альфа7 никотиновые ацетилхолиновые рецепторы (nAChR), а также ацетилхолинэстеразу.
- Было установлено, что арахидоилхолин проявляет антиоксидантную активность в моделях *in vitro* и *ex vivo*. В A549 раковых клетках, рост которых усиливается при активации альфа7 nAChR, эти соединения дозозависимо ингибировали их рост на 50%.

- С использованием PNU 282,987, селективного агониста альфа7 nAChR, мы исследовали влияние активации этих рецепторов на экспрессию цитокинов и, впервые, на экспрессию мембранных макрофагальных маркеров. Было установлено, что экспрессия HLA-DR, CD54, и CD11b увеличивается, а экспрессия CD14 рецептора уменьшается. При этом, наряду с известным ранее уменьшением экспрессии TNF- α , отмечено значительное снижение экспрессии цитокина IL-10, что может иметь большое значение для борьбы с сепсисом и иммуносупрессией при «цитокиновом шторме».

- Akimov MG et al. (2020) Arachidonoylcholine and Other Unsaturated Long-Chain Acylcholines Are Endogenous Modulators of the Acetylcholine Signaling System. **Biomolecules** (ИФ 4.694)
- Akimov MG et al. (2020) Neuroprotective and Antioxidant Activity of Arachidonoyl Choline, Its Bis-Quaternized Analogues and Other Acylcholines. **Dokl Biochem Biophys.** (ИФ 0.672)
- Siniavin AE et al.; (2020) Activation of $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Upregulates HLA-DR and Macrophage Receptors: Potential Role in Adaptive Immunity and in Preventing Immunosuppression. **Biomolecules** (ИФ 4.694)

ВПЕРВЫЕ ТРЕХ-ПЕТЕЛЬНЫЕ НЕЙРОТОКСИНЫ И НОВЫЕ АНАЛОГИ БРАДИКИНИН-ПЕТЕНЦИРУЮЩИХ ПЕПТИДОВ ОБНАРУЖЕНЫ В ЯДЕ ГАДЮК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТРАНСКРИПТОМИКИ И КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПРОТЕОМИКИ



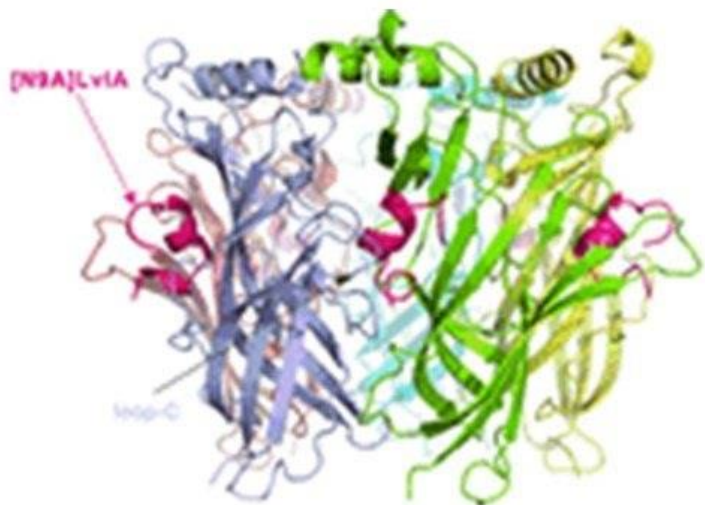
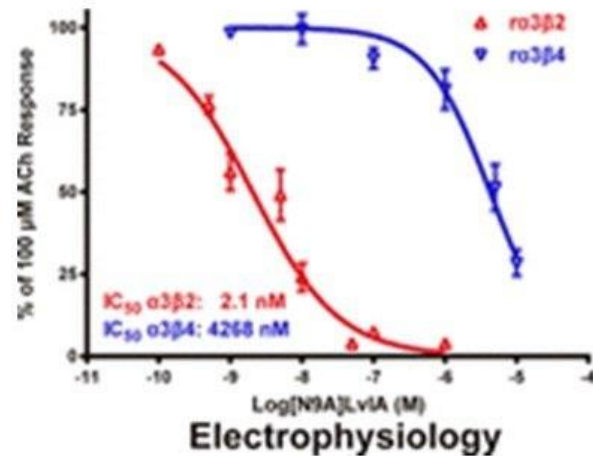
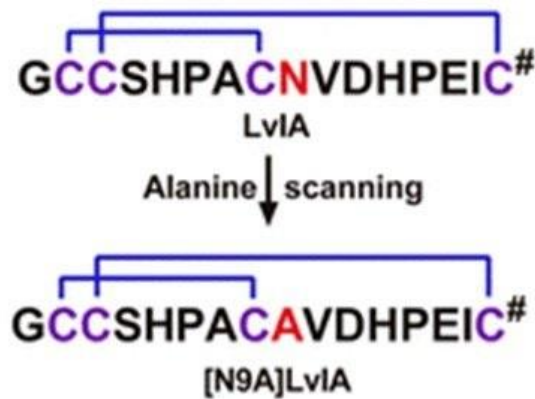
- Из яда гадюки *Azemiops feae* ранее нами был выделен аземиопсин, новый нейротоксин, ингибирующий никотиновый рецептор ацетилхолина. Для характеристики других токсинов *A. feae* был использован метод количественной протеомики, который выявил 120 уникальных белков. Всего были идентифицированы токсины, представляющие 14 семейств, среди которых брадикинин-потенцирующие пептиды с уникальными аминокислотными последовательностями обладали биологической активностью *in vivo*.
- Протеомный анализ выявил также необычные трех-петельные токсины, относящиеся к группе токсинов, обладающих нейротоксичностью. Это первое указание на присутствие трех-петельных нейротоксинов в ядах гадюк.
- Параллельно с этим транскриптомный анализ ядовитой железы, проведенный методом высокопроизводительного секвенирования (NGS), дополнительно выявил 206 предполагаемых транскриптов яда.
- Комбинированное исследование позволило охарактеризовать протеом яда и транскриптом ядовитой железы *A. feae*, которые в целом напоминают таковые у других змей из семейства Viperidae. Однако были открыты новые токсины, ранее не обнаруженные в ядах гадюк, в том числе трех-петельные нейротоксины и необычные брадикинин-потенцирующие пептиды.

Babenco VV и др. (2020) Novel Bradykinin-Potentiating Peptides and Three-Finger Toxins from Viper Venom: Combined NGS Venom Gland Transcriptomics and Quantitative Venom Proteomics of the *Azemiops feae* Viper. **Biomedicines** (ИФ 4.717)

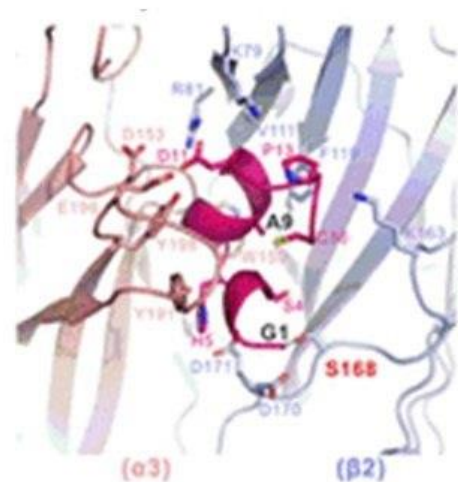
СОЗДАНИЕ НОВОГО СОЕДИНЕНИЯ ВЫСОКОСЕЛЕКТИВНОГО К $\alpha 3\beta 2$ НИКОТИНОВОМУ ХОЛИНОРЕЦЕПТОРУ (НАХР) И ВЫЯСНЕНИЕ МЕХАНИЗМА ЕГО ДЕЙСТВИЯ



Conus lividus



Crystal structure



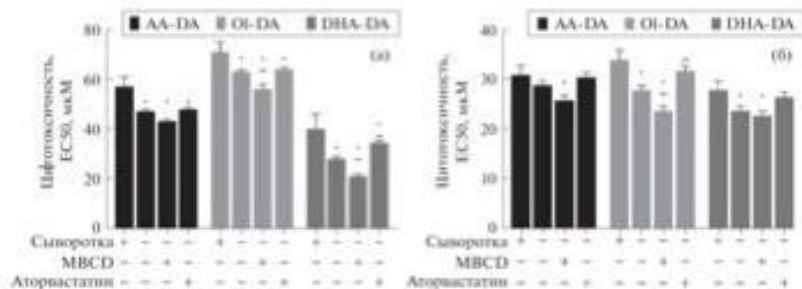
Homology modeling and Receptor mutation

Два подтипа никотинового ацетилхолинового рецептора (НАХР) - $\alpha 3\beta 2$ и $\alpha 3\beta 4$ играют важную роль в различных физиологических процессах, а также задействованы в некоторых патологиях. К настоящему времени практически не известно высокоэффективных соединений, различающих эти подтипы.

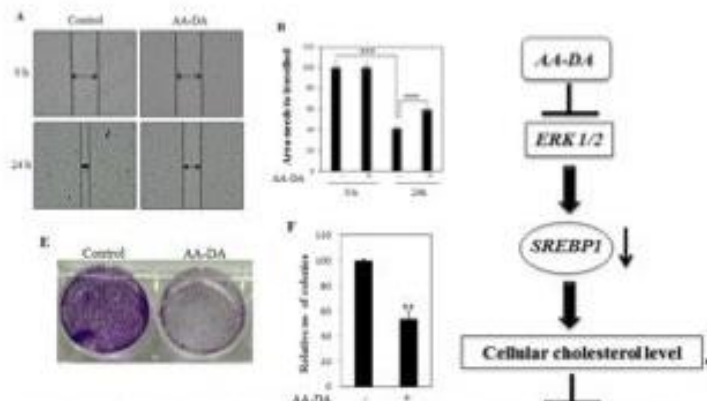
На основе структуры α -конотоксина LvIA из яда морского моллюска *Conus lividus*, методом аланинового сканирования был получен аналог [N9A]LvIA со сродством к $\alpha 3\beta 2$ на 3 порядка большим, чем к $\alpha 3\beta 4$ НАХР.

Получение кристаллической структуры этого соединения с ацетилхолин-связывающим белком и компьютерное моделирование комплекса [N9A]LvIA с $\alpha 3\beta 2$ и $\alpha 3\beta 4$ рецепторами позволили выявить аминокислотные остатки в $\beta 2$ субъединице Phe106, Ser108, Ser113, Ser168, определяющие высокую селективность нового лиганда к $\alpha 3\beta 2$ подтипу, что было подтверждено мутациями этих остатков.

Zhu X и др. (2020) High Selectivity of an α -Conotoxin LvIA Analogue for $\alpha 3\beta 2$ Nicotinic Acetylcholine Receptors Is Mediated by $\beta 2$ Functionally Important Residues. *J Med Chem* (ИФ 6.205)



Цитотоксичность (EC50) NADA на фоне разного уровня холестерина, (а) MCF 10A, (б) MDA-MB-231. Инкубация 24 ч, ресазуриновый тест, * – статистически достоверное отличие от среды с сывороткой, ** – статистически достоверное отличие от среды без сыворотки.



Effect of AA-DA on cell migration, EMT and stemness in MDA-MB-231 breast cancer cells. (A), (B) Scratch assay (E), (F) Colony formation assay. **p<0.01 vs. control.

Akimov MG и др. (2020) The Influence of the Cholesterol Level in Cells on Endovanilloid Cytotoxicity. *Dokl Biochem Biophys* (ИФ 0.672)

Akimov MG, Dudina PV, Gamisonia AM, Gretskeya NM, Zinchenko GN, Mandal CC, Bezuglov VV. The Influence of the Cholesterol Level in Cells on Endovanilloid Cytotoxicity. *Dokl Biochem Biophys*. 2020 Jul;493(1):167-170.
Bandyopadhyaya, Shreetama ; Akimov, Mikhail ; Verma, Ranjeet; Sharma, Ankit; Sharma, Divya; Kundu, Gopal; Gretskeya, Natalia; Bezuglov, Vladimir; Mandal, Chandni. A "N-arachidonoyl dopamine inhibits epithelial-mesenchymal transition of breast cancer cells through ERK signaling and decreasing the cellular cholesterol" *JOURNAL OF BIOCHEMICAL AND MOLECULAR TOXICOLOGY*, JBT-20-585.R1m in press

Впервые установлено, что уровень холестерина в раковых клетках является важным параметром, определяющим их чувствительность к цитотоксическому действию эндованилоидов ацилдофаминов. Снижение содержания холестерина в клетках и, прежде всего в цитоплазматической мембране, приводит к повышению цитотоксичности ацилдофаминов, предположительно в результате разрушения рафтов.

Также впервые показано, что ацилдофамины в клетках рака молочной железы ингибируют их миграцию, эпителиально-мезинхимальный переход и стволовость (stemness). Кроме того, ацилдофамины ингибируют ключевые гены биосинтеза холестерина в раковых клетках.

Данный результат важен для разработки новых терапевтических стратегий борьбы с онкологическими заболеваниями, основанных на использовании эндогенных противораковых соединений и малых молекул, синтезированных на шаблоне их структур.



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





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

ИФ 51,7

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

ИФ 40

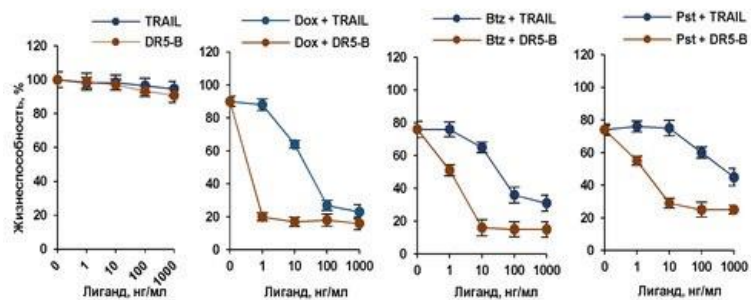
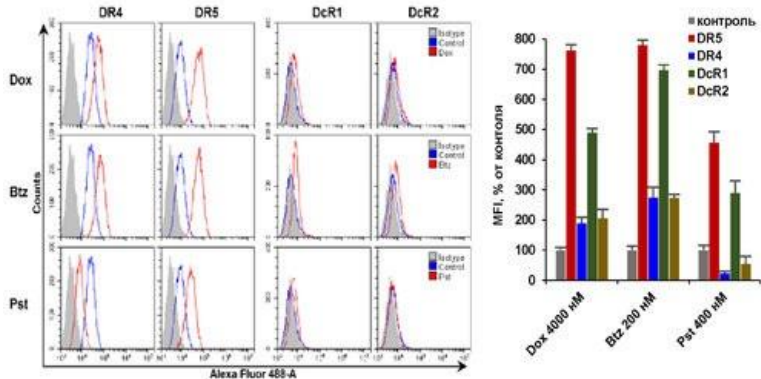
- **Лаборатория биоинженерии нейромодуляторов и нейрорецепторов**
Е.Н. Люкманова

ИФ 8,9

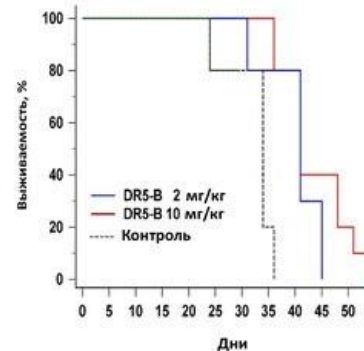
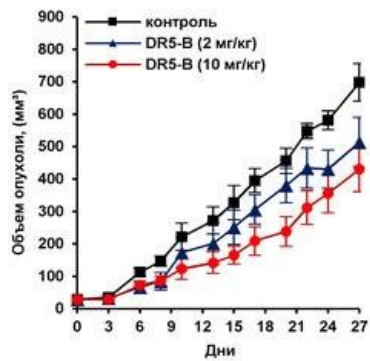
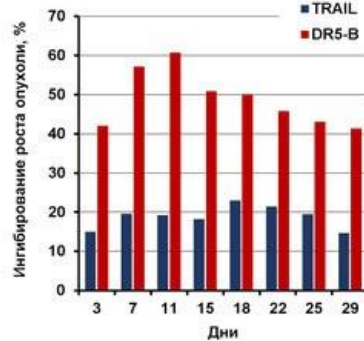
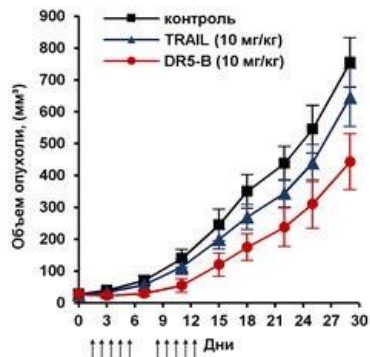
- **Лаборатория нанобиоинженерии**
О.В. Некрасова

РЕЦЕПТОР-СПЕЦИФИЧЕСКИЙ ВАРИАНТ DR5-В ЦИТОКИНА TRAIL ОБЛАДАЕТ ПОВЫШЕННОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТЬЮ И ИМЕЕТ УЛУЧШЕННЫЙ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ

Химиопрепараты доксорубин (Dox), бортезомиб (Btz) и панобиностат (Pst) повышают поверхностную экспрессию рецепторов смерти и ловушек TRAIL и сенсибилизируют резистентные клетки A549 к TRAIL и DR5-B



Антипролиферативный эффект DR5-В в ксенотрансплантатах НСТ116



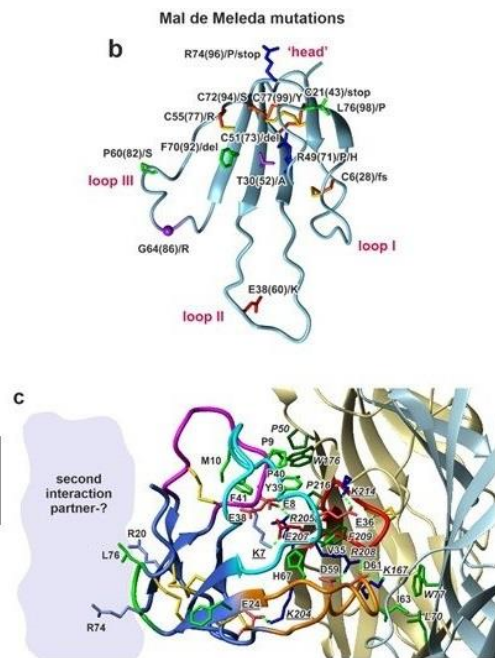
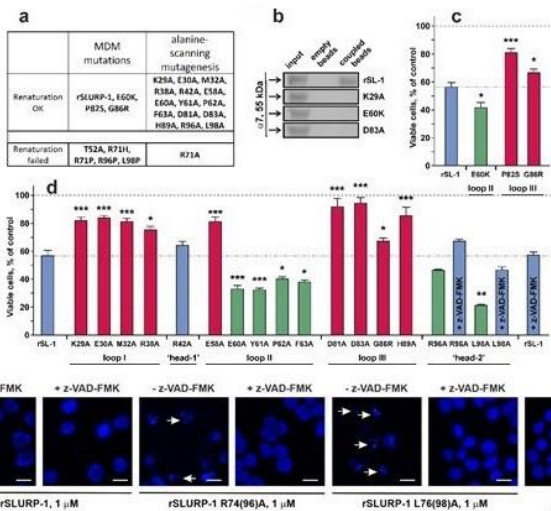
1. Artykov AA и др. (2020) Chemotherapeutic Agents Sensitize Resistant Cancer Cells to the DR5-Specific Variant DR5-B more Efficiently than to TRAIL by Modulating the Surface Expression of Death and Decoy Receptors. *Cancers (Basel)* (ИФ 6.126)
2. Yagolovich AV и др. (2020) Genetically Modified DR5-Specific TRAIL Variant DR5-B Revealed Dual Antitumor and Protumoral Effect in Colon Cancer Xenografts and an Improved Pharmacokinetic Profile. *Transl Oncol* (ИФ 3.558)

Нами был сконструирован рецептор-специфический вариант DR5-В противоопухолевого цитокина TRAIL, который обладает уникальным свойством селективно связываться только с рецептором смерти DR5, запускающим апоптоз, но не имеет сродства к рецептору DR4 и рецепторам-ловушкам DcR1, DcR2 и OPG.

Исследование DR5-В показало, что он проявляет повышенную проапоптотическую активность в опухолевых клетках как отдельно, так и в комбинации с химиопрепаратами. DR5-В ингибирует рост опухоли в ксенотрансплантатах НСТ116 и Сасо-2 с эффективностью, в 2,5-3 раза превосходящей таковую для цитокина дикого типа, а также значительно увеличивает выживаемость животных. Фармакокинетические параметры DR5-В сопоставимы с параметрами TRAIL дикого типа, но период его полувыведения в 3,5 раза выше.

Таким образом, рецептор-специфический вариант DR5-В цитокина TRAIL может являться эффективным средством для терапии опухолевых заболеваний.

ОПРЕДЕЛЕНА РОЛЬ ПРИРОДНЫХ МУТАЦИЙ БЕЛКА ЧЕЛОВЕКА SLURP-1 В ПАТОГЕНЕЗЕ КОЖНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ MAL DE MELEDA. ПРЕДСКАЗАНЫ НОВЫЕ МУТАЦИИ



Mal de Melelda (MDM) – это рецессивно наследуемая подошвенная кератодермия, связанная с мутациями в гене, кодирующем белок SLURP-1. SLURP-1 контролирует рост, дифференцировку и апоптоз кератиноцитов путем взаимодействия с никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами $\alpha 7$ -типа ($\alpha 7$ -nAChR). SLURP-1 имеет трехпетельную структуру с β -структурным ядром («головой»). Чтобы определить роль мутаций SLURP-1, мы получили 24 мутантных варианта белка с заменами в различных частях молекулы SLURP-1, включая природные варианты, участвующие в развитии MDM. Все мутанты, кроме R71/H/P/A, T52/A, R96/P и L98/P, были успешно рефолдированы из цитоплазматических телец включения. Антипролиферативную активность мутантов изучали на кератиноцитах человека Het-1A. Мутации в петлях I и III приводили к частичной или полной инактивации SLURP-1, в то время как большинство мутаций в петле II увеличивали антипролиферативную активность SLURP-1. Замена остатков R96 и L98, расположенных в «голове» белка, на аланин, приводила к проявлению проапоптотической активности SLURP-1.

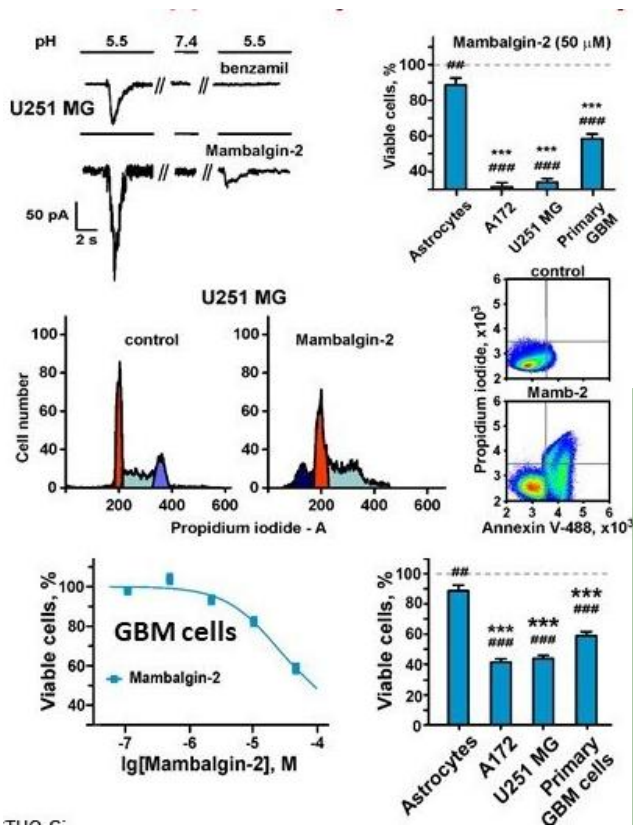
Наши результаты согласуются с наблюдаемым разнообразием фенотипов MDM. На основе полученных функциональных данных построена модель комплекса SLURP-1/ $\alpha 7$ -nAChR.

Наше исследование предоставляет новую функциональную и структурную информацию о роли мутаций SLURP-1 в патогенезе MDM и предсказывает новые варианты SLURP-1, которые могут вызывать заболевание.

Совместно с:

- лаборатория структурной биологии ионных каналов ИБХ РАН
- Группа анализа структуры мембранных белков *in silico* ИБХ РАН
- Биофак МГУ

Shulepko MA et al. Biochemical basis of skin disease Mal de Melelda: mutant forms of SLURP-1 differently influence proliferation and apoptosis of keratinocytes. *J Invest Dermatology* (second revision, ИФ 7.1)



Bychkov M и др. (2020) Mambalgin-2 Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Glioma Cells via Interaction with ASIC1a. *Cancers (Basel)* (ИФ 6.126)

Osmakov DI и др. (2020) Animal, Herb, and Microbial Toxins for Structural and Pharmacological Study of Acid-Sensing Ion Channels. *Front Pharmacol* (ИФ 4.225)

Bychkov ML и др. (2020) ASIC1a Inhibitor mambalgin-2 Suppresses the Growth of Leukemia Cells by Cell Cycle Arrest. *Acta Naturae* (ИФ 1.36)

Протон-управляемые каналы ASIC1 являются молекулярной мишенью трехпетельных токсинов из яда черной мамбы (*Dendroaspis polylepis*) – мамбалгинов. Мамбалгины эффективно ингибируют гомо- и гетеромерные рецепторы, содержащие субъединицу ASIC1a, однако возможность их использования в качестве противоопухолевых агентов ранее не исследовалась.

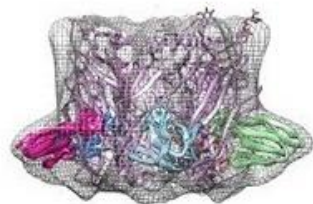
- ❑ Показано, что мРНК ASIC1a экспрессируется в клетках хронической миелогенной лейкемии и глиом, но не в нормальных клетках.
- ❑ Мамбалгин-2 подавлял рост клеток глиомы U251 MG и A172 с EC50 в наномолярном диапазоне, не влияя на пролиферацию нормальных астроцитов.
- ❑ Примечательно, что мутанты мамбалгина-2 не влияли на рост клеток глиомы, указывая на ASIC1a как на главную молекулярную мишень мамбалгина-2 в глиомных клетках.
- ❑ Мамбалгин-2 вызывал остановку клеточного цикла, ингибировал фосфорилирование циклина D1 и циклин-зависимых киназ (CDK) и вызывал апоптоз в глиомных клетках.
- ❑ Кроме того, мамбалгин-2 подавлял рост клеток первичной линии, полученной от пациента с глиобластомой.

Наши данные указывают на мамбалгин-2 как на перспективный прототип препаратов для направленного лечения онкозаболеваний, и на каналы, содержащие субъединицу ASIC1a, как на новую мишень таргетной терапии.

Совместно с:

- Институт цитологии РАН
- Биофак МГУ
- Национальный медицинский центр нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко

Среднее разрешение 6Å



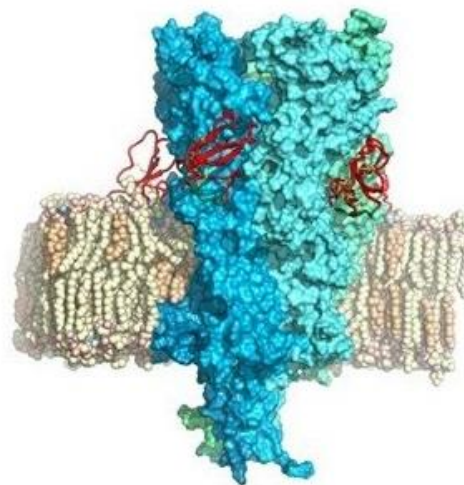
side view



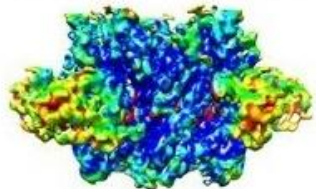
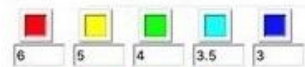
top view



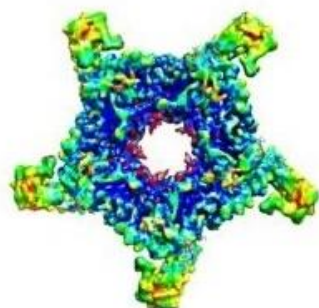
bottom view



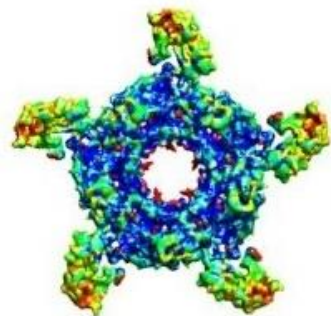
Среднее разрешение 3.5Å



side view



top view



bottom view

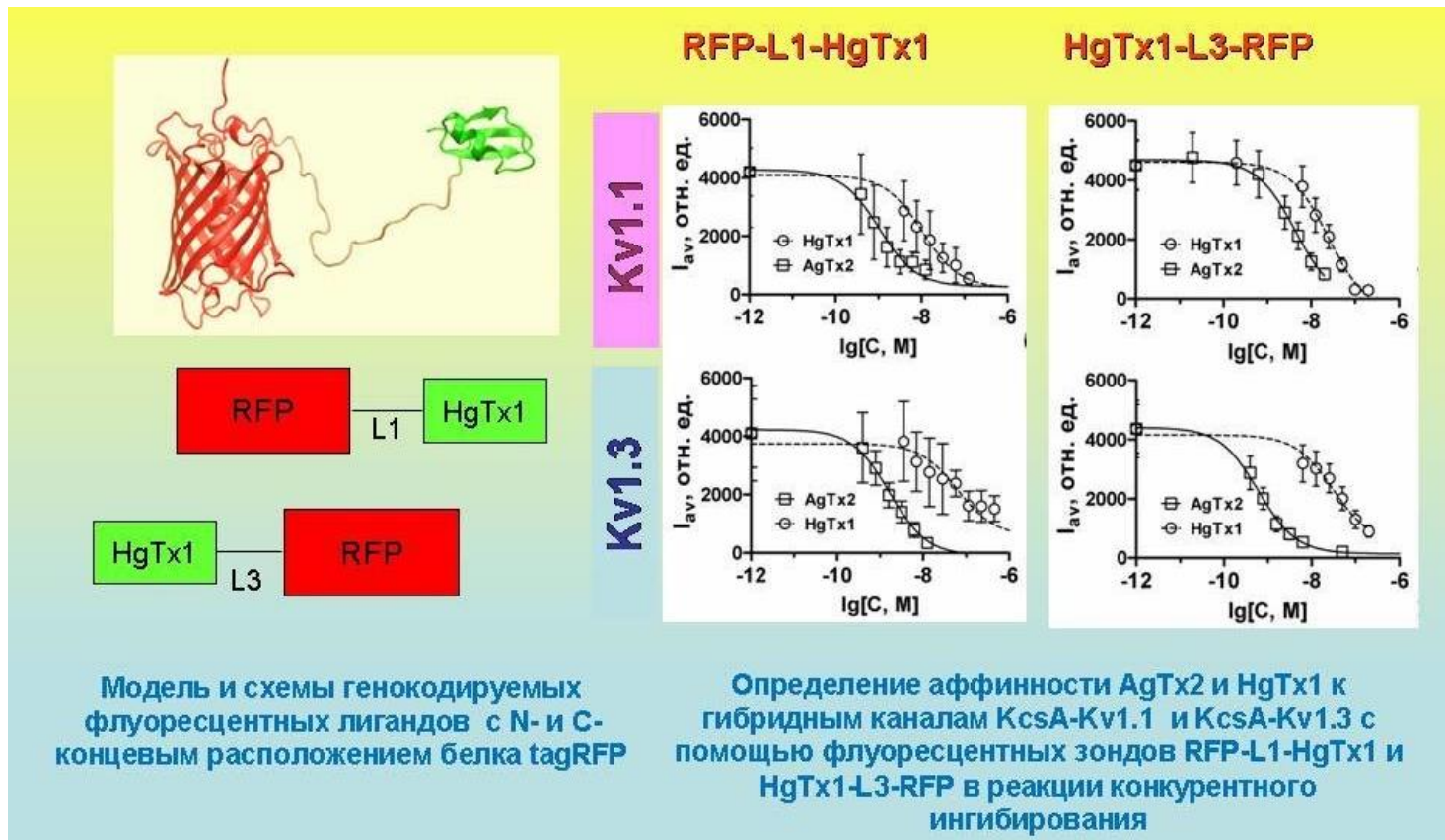
Совместно с:

- Институт биохимии им. А.Н. Баха
- Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича
- Биофак МГУ
- НИЦ «Курчатовский институт»

- ❑ Методами крио-электронной микроскопии получены изображения комплексов внеклеточного домена $\alpha 7$ -nAChR с нейротоксинами α -Bgtx и WTX, что позволило в обоих случаях определить структуры комплексов со средним разрешением 3.5 Å и 6.0 Å, соответственно.
- ❑ Методами ЯМР-спектроскопии и сайт-направленного мутагенеза были получены дополнительные данные о взаимодействии токсина WTX с мембранным окружением $\alpha 7$ -nAChR и самим рецептором.
- ❑ Полученные данные позволили методами компьютерного моделирования построить модель комплекса полноразмерного рецептора $\alpha 7$ -nAChR с токсином WTX в мембранном окружении, что в свою очередь позволило описать новый тип взаимодействия нейротоксин/рецептор, не описанный ранее.
- ❑ В процессе работы также был разработан новый метод подтверждения комплексообразования рецептор-лиганд с применением флуоресцентно-меченых лигандов и гель-фильтрации.

Kulbatskii DS и др. (2020) Efficient screening of ligand-receptor complex formation using fluorescence labeling and size-exclusion chromatography. *Biochem Biophys Res Commun* (ИФ 2.985)

НОВЫЕ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ЗОНДЫ НА ОСНОВЕ ХОНГОТОКСИНА ДЛЯ ПОИСКА И ИЗУЧЕНИЯ БЛОКАТОРОВ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ Kv1.1 И Kv1.3



Методами биоинженерии получены новые генокодируемые флуоресцентные лиганды на основе хонготоксина 1 и красного флуоресцентного белка tagRFP, локализованного на N- или C-конце химерного белка: RFP-L1-HgTx1 и HgTx1-L3-RFP.

Константы диссоциации комплексов RFP-L1-HgTx1 и HgTx1-L3-RFP с сайтами связывания потенциал-зависимых калиевых каналов Kv1.x (x = 1, 3) находятся в наномолярном диапазоне концентраций.

RFP-L1-HgTx1 и HgTx1-L3-RFP могут быть использованы в составе биоинженерных клеточных систем на основе гибридных каналов KcsA-Kv1.x (x = 1, 3) для поиска и изучения блокаторов Kv1.1 и Kv1.3 каналов, представляющих интерес для лечения заболеваний, сопровождающихся нарушением активности калиевых каналов.

Работа выполнена при участии студентов биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова А.Л. Примака и М.А. Скутель. Работа поддержана грантом РНФ 19-74-30014.

1. Primak A.L. et al. Kv1 Potassium Channel Ligands Based On Hongotoxin 1 and Red Fluorescent Protein. 2020. DOI: 10.1134/S1068162020060266. *Russ J Bioorg Chem.* (ИФ 0.682)
2. Skutel, M et al. RFP-tagged hongotoxin 1 and its interactions with KcsA-Kv1.1 hybrid channels. 2020, doi:10.1017/S1431927620017900 *Microscopy and Microanalysis* (ИФ 3.414)



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





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

ИФ 53,8

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

ИФ 81,7

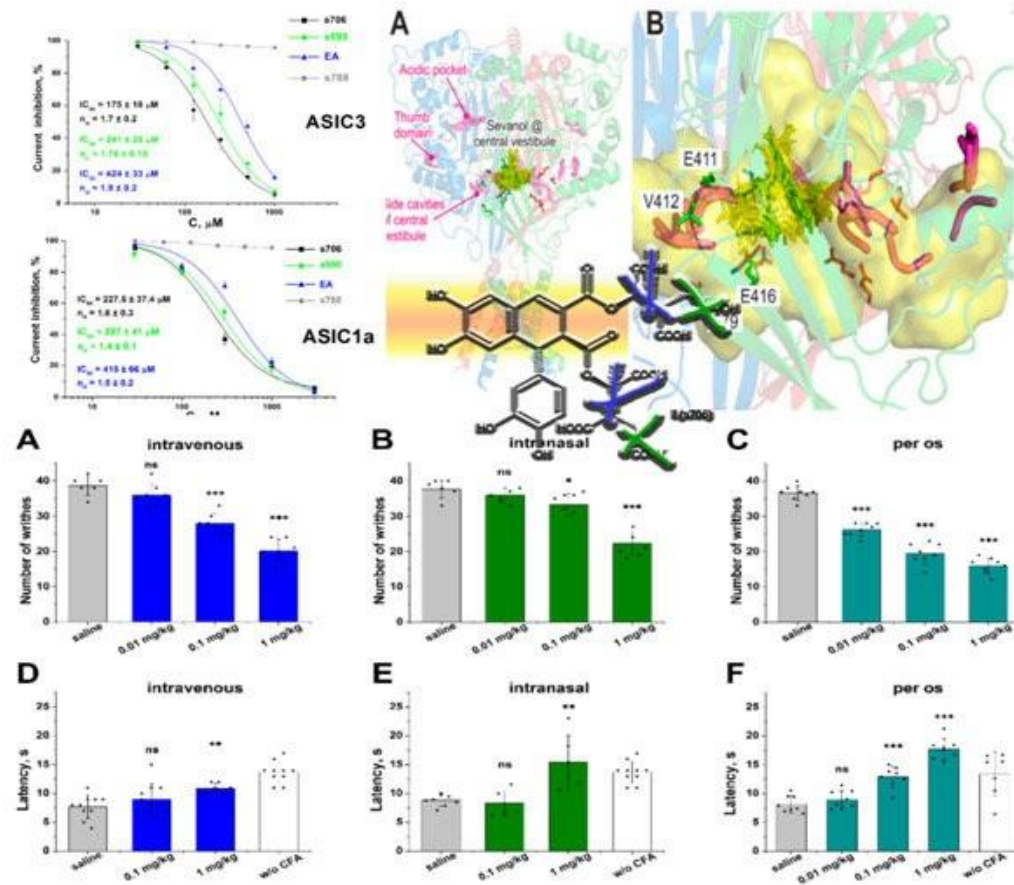
- **Лаборатория внесинаптической передачи**
А.В. Семьянов

ИФ 11,8

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

ИФ 13,7

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



Belozerova OA и др. (2020) Sevanol and Its Analogues: Chemical Synthesis, Biological Effects and Molecular Docking. *Pharmaceuticals (Basel)* (ИФ 4.286)

Среди кислоточувствительных ионных каналов (ASIC) субъединицы ASIC1a и ASIC3 являются наиболее привлекательными фармакологическими мишенями. Ингибирование этих каналов специфичными лигандами - прямой путь к лечению социально значимых заболеваний, таких как хроническая и патологическая боль, инсульт, болезнь Паркинсона. Растительный лиганд Севанол, выделенный ранее из темьяна, ингибирует активность изоформ ASIC1a и ASIC3 и оказывает значительное обезболивающее и противовоспалительное действие. Однако, его синтез сложен и содержит много стадий.

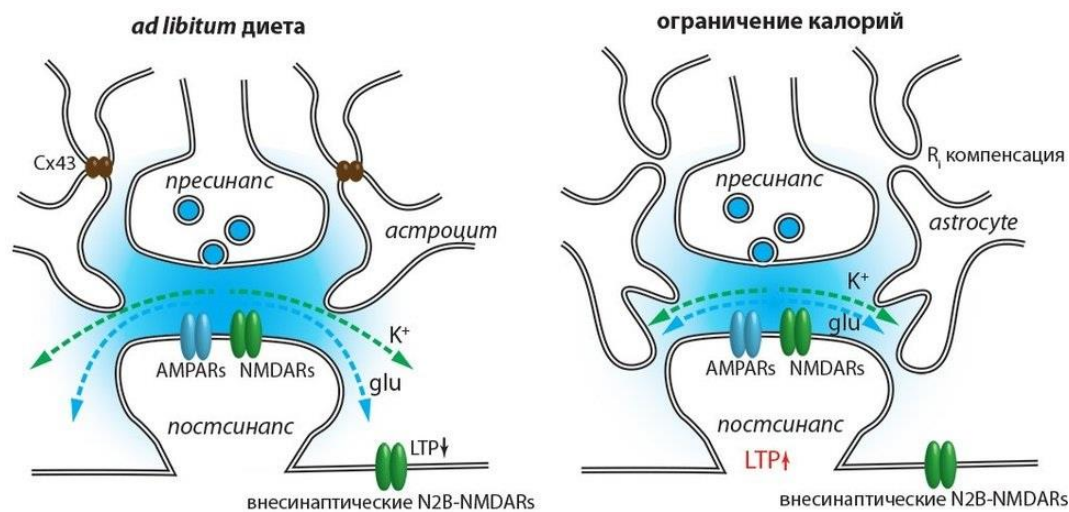
Проведенные структурно-функциональные исследования позволили минимизировать структуру Севанола с сохранением как анальгетической активности на животных моделях, так и ингибирующее действие на ASIC.

На структурном уровне было предсказано наличие сайта связывания Севанола в центральном вестибюле ASIC1a и показана его конкуренция за этот участок связывания с FRRF-амидным пептидом.

Разработанные аналоги Севанола оказывали значительное обезболивающее и противовоспалительное действие при различных способах введения - внутривенное или внутримышечное (парентеральные способы), а также интраназальное или пероральное (неинвазивные способы).

Разработанные методики синтеза аналогов позволяют уже сегодня начать внедрение этих потенциальных лекарственных средств в практические исследования, так как отсутствие выявленных побочных действий на данный момент и способ действия через желудочно-кишечный тракт являются важными конкурентными преимуществами новых молекул над существующими анальгетическими препаратами.

СОКРАЩЕНИЕ ПОТРЕБЛЕНИЯ КАЛОРИЙ СТИМУЛИРУЕТ РОСТ АСТРОЦИТОВ И УЛУЧШАЕТ СИНАПТИЧЕСКУЮ ПЛАСТИЧНОСТЬ В МОЗГЕ



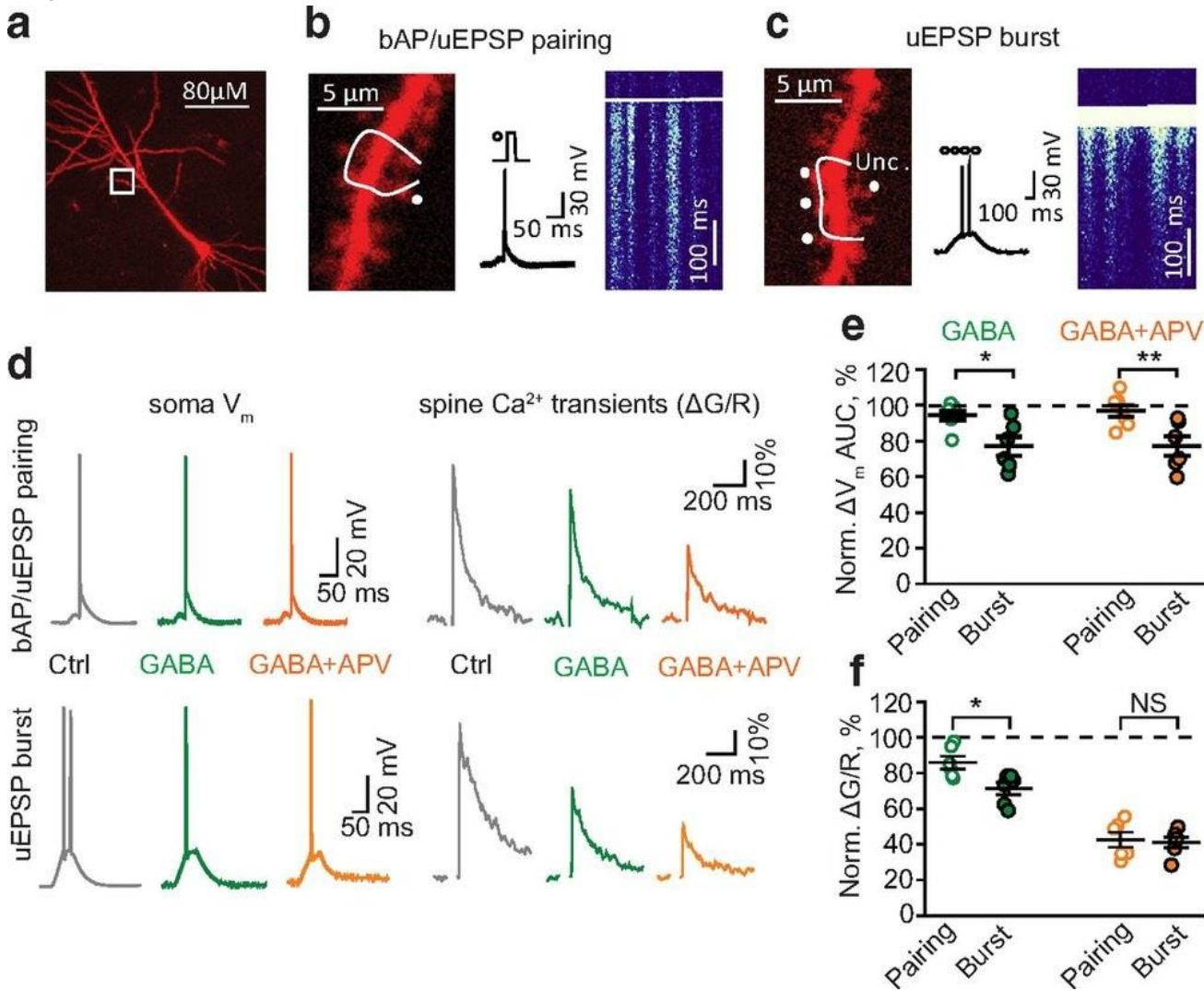
Известно, что сокращение потребления пищи оказывает нейропротекторное действие, замедляет возрастное снижение когнитивных способностей и снижает вероятность наступления нейродегенеративных заболеваний, однако роль астроцитов в этом процессе недостаточно изучена. Были исследованы две группы животных, возрастом 3 месяца. Первая группа получала пищу *ad libitum*, вторая 70% от среднесуточного потребления первой группы. У второй группы в результате одного месяца диеты произошли морфологические и функциональные изменения в астроцитах гиппокампа по сравнению с первой группой: увеличилась объемная доля дистальных перисинаптических астроцитарных листочков. Увеличение размеров астроцита должно было привести к увеличению проводимости, а, следовательно, уменьшению сопротивления мембраны астроцитов. Однако этого не произошло потому, что в астроцитах снизилась экспрессия коннексинов, образующих гап-контакты. Это не только сбалансировало сопротивление мембраны, но и снизило связанность астроцитов в сети.

Наблюдаемые морфологические изменения в астроцитах также привели к функциональным. Более плотное покрытие синапса увеличило эффективность захвата глутамата и удаления калия во время синаптической передачи. При этом изменений в экспрессии транспортеров глутамата не было выявлено. Более эффективный захват глутамата астроцитами привел к снижению спilloвера (вытекания за пределы синаптической щели) этого нейротрансмиттера и снижению активации внесинаптических NMDA рецепторов. Эти рецепторы отвечают за синаптическую депрессию. В результате увеличилась эффективность синаптической потенциации, которая является клеточным механизмом обучения и памяти.

Таким образом, было показано, что диета со сниженным потреблением калорий обеспечивает основу для улучшения обучения и памяти посредством морфофункционального ремоделирования астроцитов.

Popov A и др. (2020) Caloric restriction triggers morphofunctional remodeling of astrocytes and enhances synaptic plasticity in the mouse hippocampus. *Cell Death Dis* (ИФ 6.304)

ТОНИЧЕСКАЯ ГАМКА ПРОВОДИМОСТЬ СЕЛЕКТИВНО ИНГИБИРУЕТ ДОЛГОВРЕМЕННУЮ ПЛАСТИЧНОСТЬ, ВЫЗВАННУЮ ТЕТАНИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИЕЙ В ГИППОКАМПЕ

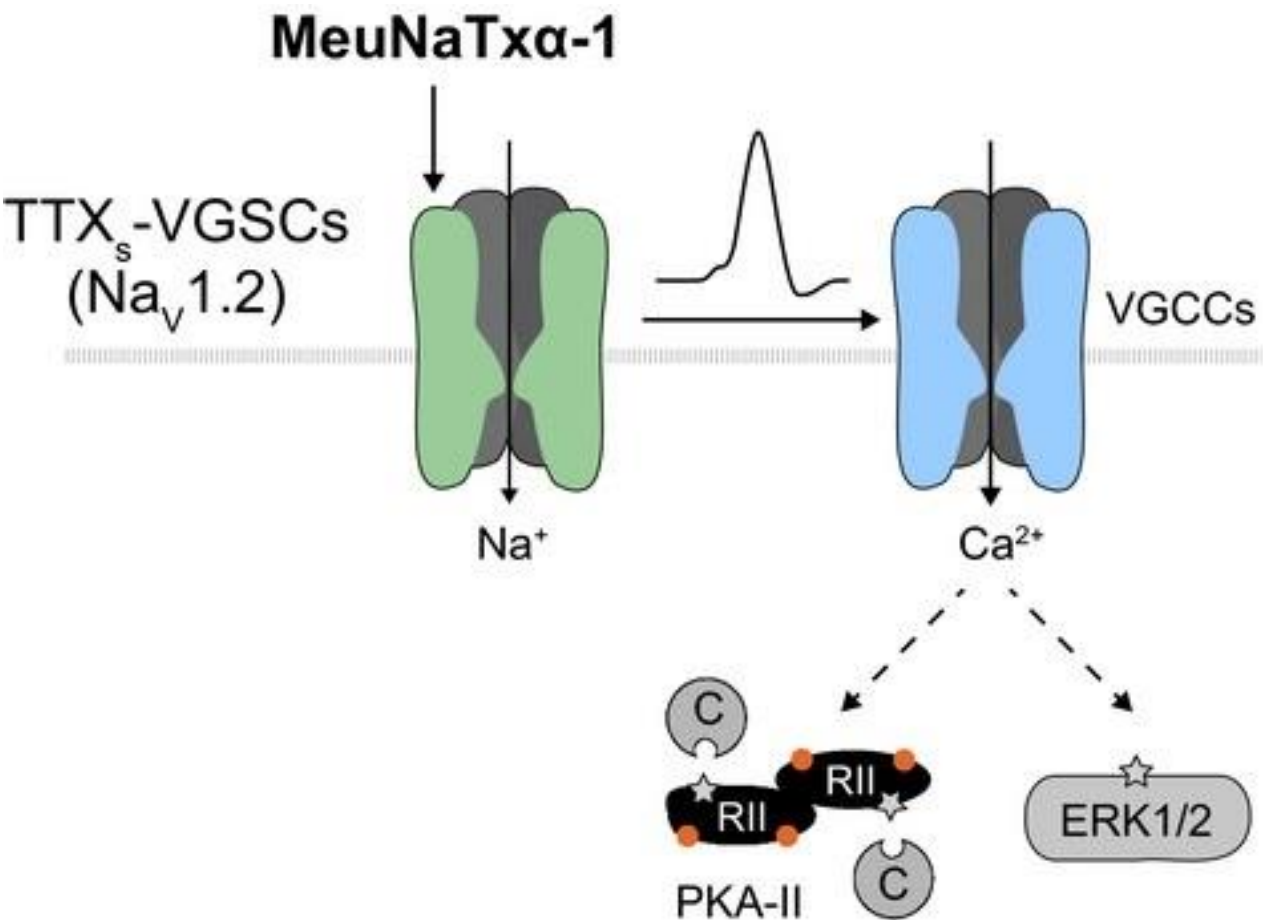


Некоторые нейротрансмиттеры, вовлеченные в синаптическую передачу, способны покинуть синаптическую щель или высвободиться астроцитами, и могут активировать внесинаптические рецепторы. Так, например, внесинаптические ГАМКА рецепторы опосредуют тоническую ГАМК проводимость, которая снижает возбудимость нейронов путем шунтирования.

Мы показали, что тоническая ГАМК проводимость оказывает минимальное влияние на синаптическую пластичность, зависящую от времени возникновения потенциалов действия, при этом сильно ослабляя пластичность, вызываемую возбуждающими постсинаптическими потенциалами.

Полученные результаты проливают свет на то, как изменения тонической проводимости могут выборочно влиять на различные формы обучения и памяти. В частности, эти результаты могут объяснить, как на различные формы памяти влияет увеличение тонической проводимости ГАМКА в физиологических или патологических условиях, а также под влиянием веществ, воздействующих на внесинаптические ГАМКА рецепторы (например, нейростероиды, седативные средства, противоэпилептические препараты и алкоголь).

Dembitskaya Y и др. (2020) Tonic GABA_A conductance favors spike-timing-dependent over theta-burst-induced long-term potentiation in the hippocampus. *J Neurosci* (ИФ 5.673)



В совместном исследовании с [лабораторией профессора Тима Хухо](#) (Кёльнский университет) мы обнаружили в составе яда скорпионов вещества с неожиданными свойствами. Хорошо известно, что токсины скорпионов воздействуют на ионные каналы и рецепторы в клеточной мембране нейронов.

- ❑ Теперь же оказывается, что некоторые содержащиеся в яде токсины способны воздействовать на сигнальные пути внутри клеток.
- ❑ Более того, выяснилось, что один из таких токсинов (MeuNaTx α -1) из яда пёстрого скорпиона (*Mesobuthus eupeus*) запускает сигнальные каскады за счет специфического воздействия на определенную изоформу натриевых каналов. В конечном итоге воздействие токсина на нейрон приводит к его сенситизации — повышенной чувствительности.
- ❑ Идентифицировать мишень токсина удалось благодаря использованию целого ряда других нейротоксинов с различающимися профилями специфичности — как молекулярные исследовательские инструменты.

van Cann M и др. (2020) Scorpion toxin MeuNaTx α -1 sensitizes primary nociceptors by selective modulation of voltage-gated sodium channels. *FEBS J* (ИФ 4.392)





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

ИФ 21,2

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

ИФ 73,5

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

ИФ 39,9

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

ИФ 45,6

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

ИФ 5,2

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

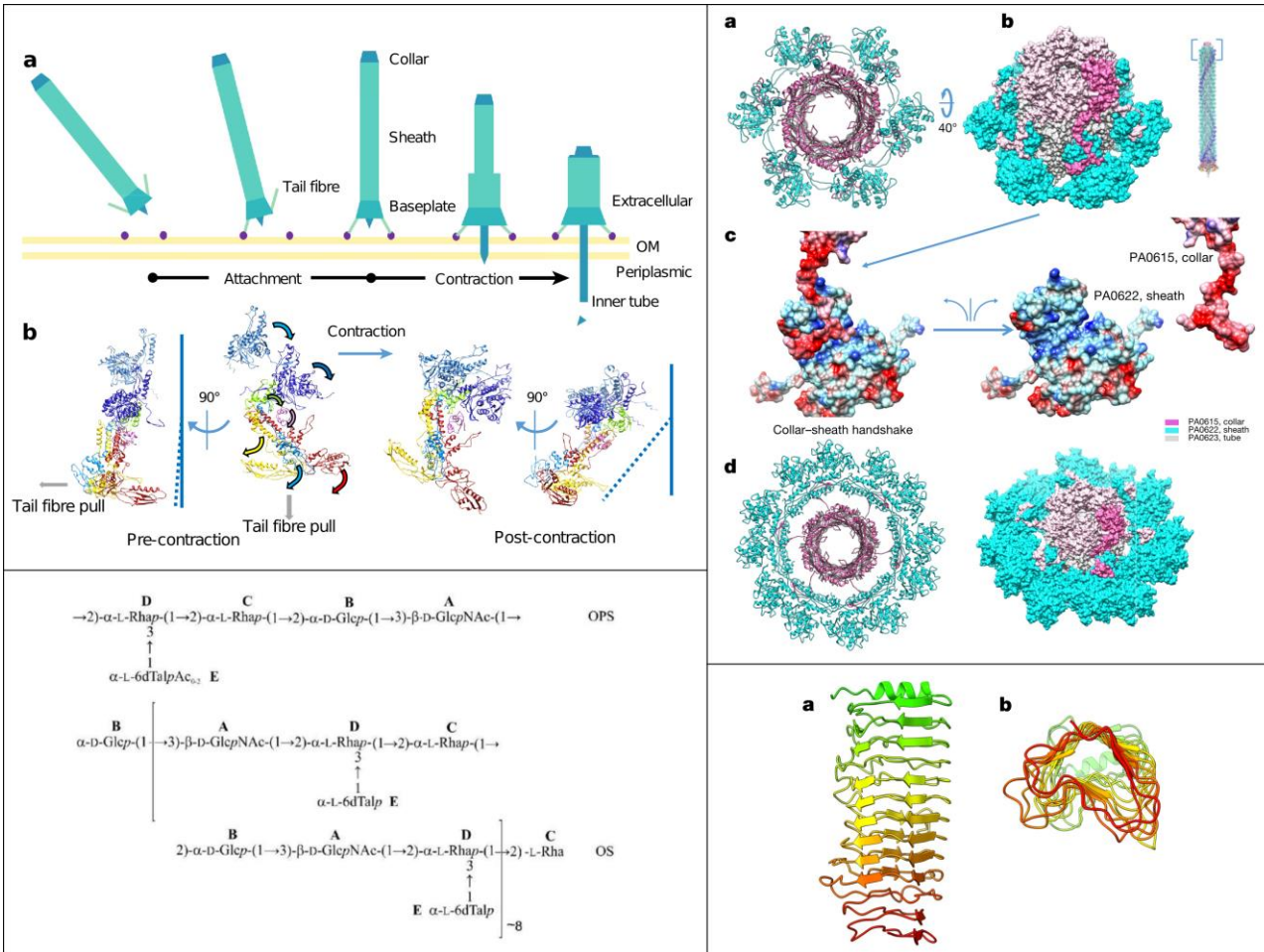
ИФ 5,7

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

ИФ 44,9

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

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СОКРАТИТЕЛЬНЫХ НАНОМАШИН (ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АДОРБЦИОННОГО АППАРАТА БАКТЕРИОФАГОВ И БАКТЕРИОЦИНОВ С КЛЕТОЧНЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ)



1,2 – Структура пиоцина

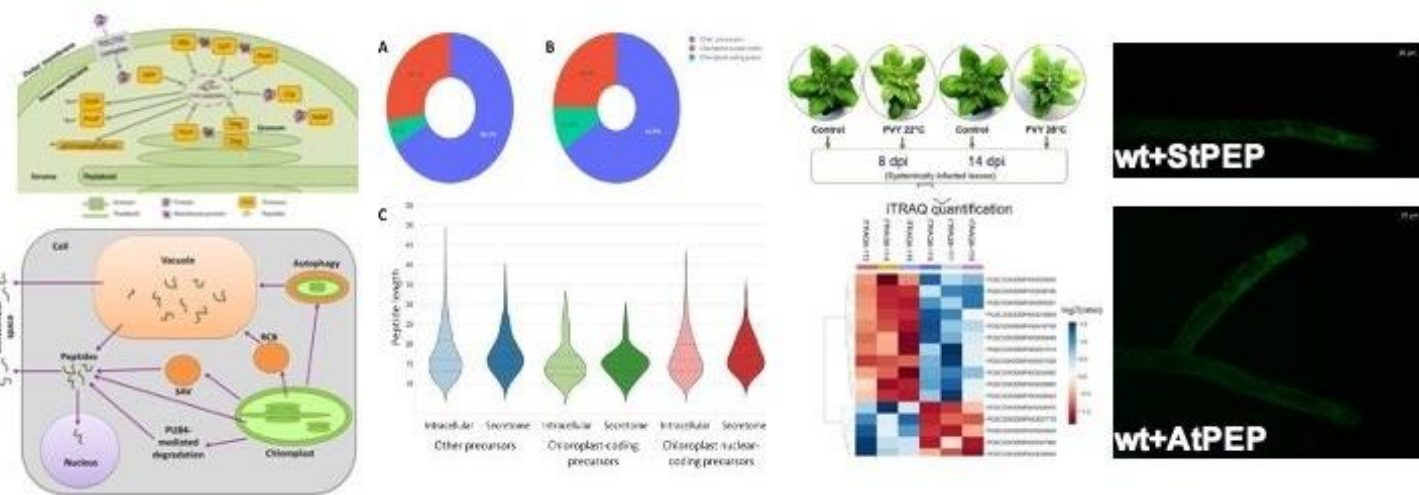
3,4 – Структура и анализ продуктов катализа деацетилазы фага Arno160

Хвосты бактериофагов морфотипа Myoviridae, пиоцины R-типа и бактериальные системы секреции типа 6 представляют собой сложные «молекулярные пружины». Эти многобелковые комплексы специфически распознают рецепторы на поверхности бактерии и, сокращаясь, протыкают ее клеточную стенку.

- ❑ С разрешением 3.5 Å определена структура пиоцина R2 с реконструкцией конформационных перестроений, сопровождающих сокращение.
- ❑ Связывание хвостовых комплексов с поверхностью клетки часто сопровождается ферментативной модификацией рецептора, что обеспечивает необратимую адсорбцию.
- ❑ Для ряда бактериофагов Pectobacterium методом ЯМР показано, что адсорбция сопровождается деацелированием боковых цепей O-полисахарида.

1. Ge P и др. (2020) Action of a minimal contractile bactericidal nanomachine. *Nature* (ИФ=42.778)
2. Shneider MM и др. (2020) Autographivirinae Bacteriophage Arno 160 Infects Pectobacterium carotovorum via Depolymerization of the Bacterial O-Polysaccharide. *Int J Mol Sci* (ИФ=4.556)
3. Lukianova AA и др. (2020) Morphologically Different Pectobacterium brasiliense Bacteriophages PP99 and PP101: Deacetylation of O-Polysaccharide by the Tail Spike Protein of Phage PP99 Accompanies the Infection. *Front Microbiol* (ИФ=4.235)

- Проанализированы пептиды хлоропластов, их пути образования и возможные функции (Mamaeva et al., 2020, *New Phytologist*, IF=8.5)
- Показана роль метионинового цикла в формировании устойчивости растений картофеля к вирусной инфекции (Fesenko et al., 2020, *Mol Plant Pathol*, IF=4.3)
- Предсказаны новые короткие секретлируемые пептиды у шести видов бриофитов, выявлены новые пептиды, регулирующие иммунный ответ (Lyarina et al., *Plant Mol. Biol.*, IF=4.08, under review)



1. Fesenko I и др. (2020) Role of the methionine cycle in the temperature-sensitive responses of potato plants to potato virus Y. *Mol Plant Pathol* (ИФ 4.326)
2. Mamaeva A и др. (2020) The role of chloroplast protein remodeling in stress responses and shaping of the plant peptidome. *New Phytol* (ИФ 8.512)

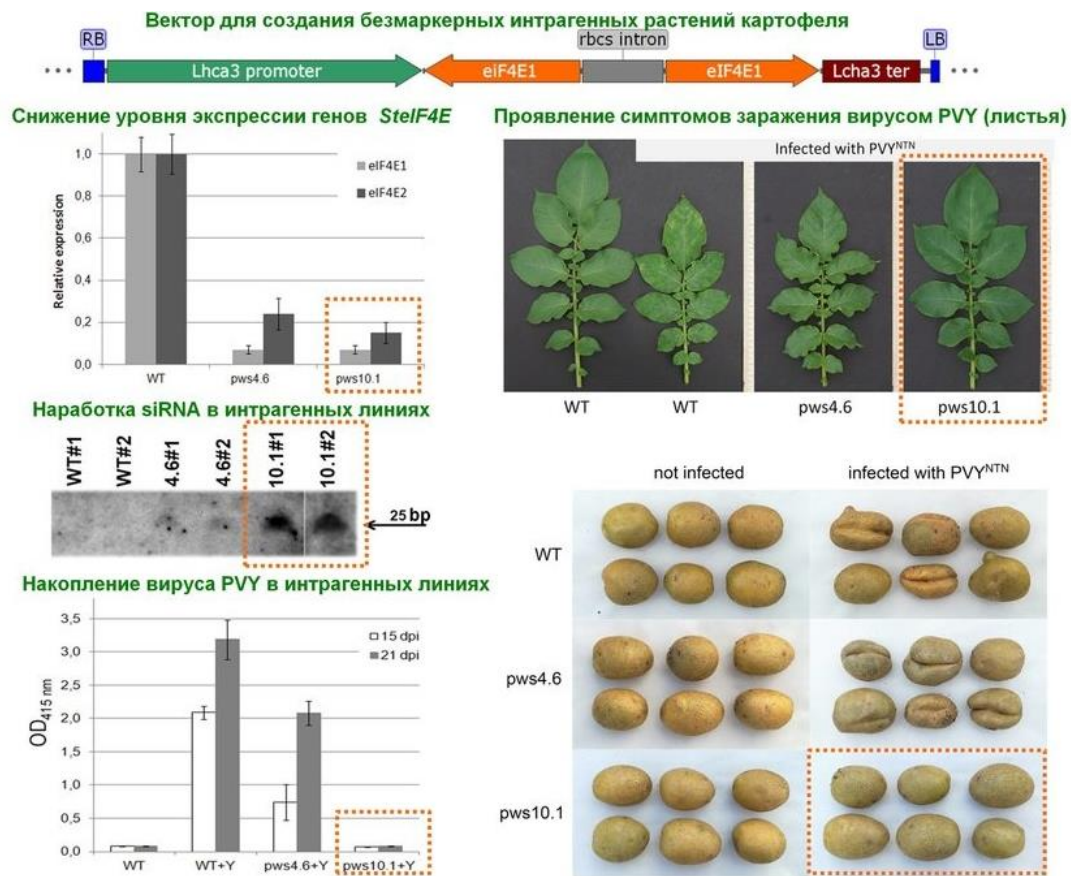
Стрессовые факторы оказывают значительное влияние на растительный протеом и пептидом.

Мы показали, что заражение картофеля вирусом Y в условиях теплового стресса вызывает значительные изменения протеома растений и приводит к снижению представленности ферментов метионинового цикла. Кроме того, деградация белков в стрессовых условиях также приводит к существенному изменению пула эндогенных пептидов.

Одним из основных источников таких пептидов является хлоропластный протеом, подвергающийся активному ремоделированию в стрессовых условиях. Функции образующихся пептидов могут быть связаны с регуляцией ответа растений на стрессовые факторы. Растения используют множество пептидных сигналов для регуляции иммунного ответа. Однако, их происхождение и эволюция еще слабо изучены.

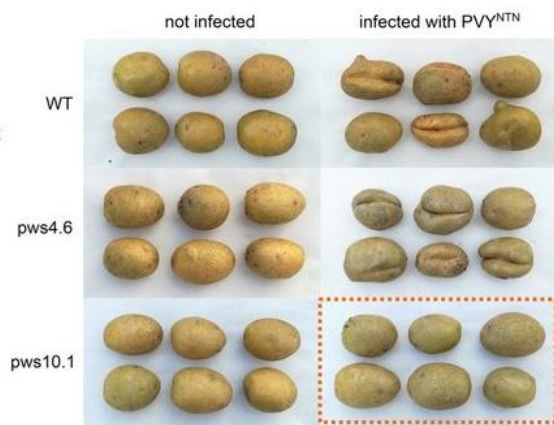
Мы идентифицировали гены секретлируемых пептидов в геномах бриофитов и обнаружили, что паттерны иммунных пептидов отличаются у разных филогенетических групп. Специфичные для покрытосеменных регуляторные иммунные пептиды вызывают ответ на уровне АФК у мха *P. patens*.

СОЗДАНИЕ ИНТРАГЕННЫХ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ, ПРОЯВЛЯЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬ К ВИРУСУ PVY ВСЛЕДСТВИЕ ЦЕЛЕВОГО НОКДАУНА СЕМЕЙСТВА ГЕНОВ ФАКТОРОВ ИНИЦИАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ eIF4E



РНК вирусы растений для трансляции собственной РНК в растительных клетках рекрутируют факторы трансляции своих хозяев. Создание дефицита определенных факторов инициации трансляции, является одним из способов защиты растений от вирусной инфекции.

Посредством RNAi регуляции экспрессии семейства генов, кодирующих факторы eIF4E, а именно благодаря 6-10 кратному снижению экспрессии гомологов StelF4E1 и StelF4E2, удалось существенно понизить восприимчивость растений картофеля к заражению PVY, считающимся самым вредоносным вирусом картофеля. Встраиваемая в геном картофеля hrRNAi кассета состояла только из регуляторных последовательностей (промотор, интрон, терминатор) и участков генома (инвертированные фрагменты StelF4E1) картофеля, что позволило получить интрагенные растения, не содержащие какие-либо маркерные или селективные последовательности вирусного/бактериального происхождения.



Для достижения устойчивости использовали тканеспецифичный промотор StLhca3 картофеля, обеспечивающий интерференционную активность преимущественно в листьях (являются основной мишенью для вируса), благодаря чему удалось избежать негативного эффекта «выключения» eIF4E генов на жизнедеятельность растений и клубнеобразование картофеля.

1. Miroshnichenko D и др. (2020) Evaluation of Plant-Derived Promoters for Constitutive and Tissue-Specific Gene Expression in Potato. *Plants (Basel)* (ИФ 2.762)
2. Miroshnichenko N и др. (2019) Enhancement of resistance to PVY in intragenic marker-free potato plants by RNAi-mediated silencing of eIF4E translation initiation factors. *Plant Cell Tissue Organ Cult* (ИФ 2.196)

РАЗРАБОТКА РАСТИТЕЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИОННОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО АРТЕМИЗИНИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ СИНТЕТИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ

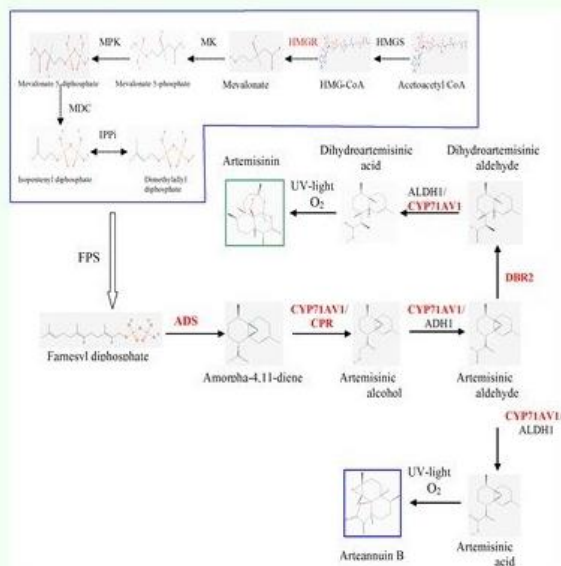


Рис. 1. Путь биосинтеза артемизинина в *A. annua*. ADS - аморфа-4,11-диен-синтаза; CYP71AV1 - аморфа-4,11-диен монооксигеназа; ADH1 - алкоголь дегидрогеназа; DBR2 - альдегид $\Delta 11(13)$ редуктаза; ALDH1 - альдегид дегидрогеназа. Путь биосинтеза мевалоновой кислоты (MVA) показан в синей рамке. Гены биосинтеза артемизинина, клонированные в векторе p.ArtemC, показаны красным цветом.

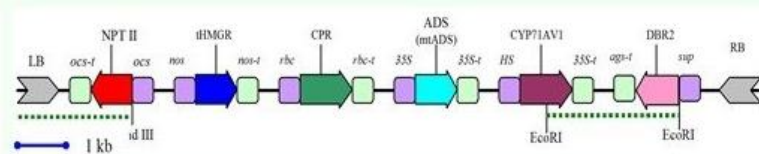


Рис. 2. Схема экспрессионной кассеты вектора p.ArtemC, использованного для трансформации хризантемы. thMGR- дрожжевая 3-гидрокси-3-метилглутарил-коэнзим А редуктаза, CPR-цитохром P450 редуктаза, ADS- аморфа-4,11-диен-синтаза, CYP71AV1-аморфа-4,11-диен монооксигеназа, DBR2 - альдегид $\Delta 11(13)$ -редуктаза. Пурпурным цветом показаны промоторы, светло-зеленым - терминаторные последовательности.

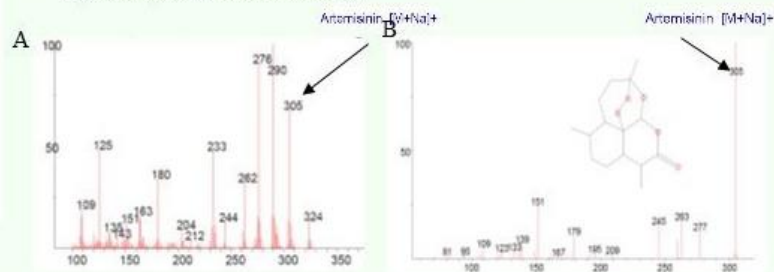


Рис. 3. GC-MS анализ трансгенной линии хризантемы сорта White Snowdon. А. Масс-спектр трансгенной линии для пика с RT 21:20. В. Масс-спектр стандарта артемизинина из NIST_MSMS library (NIST#: 1166343). Артемизинин детектировался как ион с $m/z=305 [M + Na]^+$. Масс-спектры, соответствующие артемизинину, не были детектированы в нетрансгенных контрольных растениях.



Артемизинин – терпеновый лактон, содержащийся в растении полынь однолетняя (*Artemisia annua*) и обладающий высокой антималярийной активностью. В настоящее время комбинированные с артемизинином лекарственные средства являются наиболее эффективными препаратами для лечения малярии, использование таких препаратов является стандартом лечения во всем мире. Целью исследования являлось получение растений хризантемы, трансформированных генами пути биосинтеза артемизинина и анализ накопления рекомбинантного артемизинина в полученных растениях.

В результате агробактериальной трансформации были получены трансгенные линии с генами биосинтеза артемизинина. Таким образом, нами впервые в растениях хризантем был реконструирован биосинтетический путь артемизинина. В результате масс-спектрометрического анализа показано его накопление в листовых тканях трансгенных растений.



Полученные результаты будут использованы в дальнейших исследованиях по разработке гетерологичных экспрессионных систем для производства артемизинина и других небелковых веществ.

1. Firsov AP и др. (2020) Agrobacterium Transformation of Tobacco with a Genetic Module of Antimalarial Agent Artemisinin Biosynthesis. *Biotekhnologiya (ИФ 0)*
2. Firsov A и др. (2020) Agrobacterium-Mediated Transformation of Chrysanthemum with Artemisinin Biosynthesis Pathway Genes. *Plants (Basel) (ИФ 2.762)*



Показан положительный эффект колонизации растений томата (*Lucopersicon esculentum* Mill.) и табака (*Nicotiana tabacum* L.), бактериями *Pseudomonas fluorescens*, *Acinetobacter baumannii*, *Rhodococcus erythropolis*, *Pseudomonas aureofaciens*, *Pseudomonas putida*, *Methylovorus mays*.

У колонизированных растений повышалась скорость роста, урожайность и адаптационные способности. Впервые получены трансгенные растения рапса (*Brassica napus*), экспрессирующие антибактериальный пептид сесР1 и колонизированные ассоциативными микроорганизмами *Pseudomonas aureofaciens* или *Methylovorus mesophilicum*.

Такой подход позволил повысить скорость роста по сравнению с трансгенными растениями и продемонстрировал повышенные адаптационные способности к неблагоприятным условиям. Созревание урожая семян колонизированного трансгенного рапса происходило быстрее, чем у трансгенных неколонизированных растений.

Апробируется новый подход к более эффективному подбору колонизирующих микроорганизмов с учетом предварительной оценки их потенциальных симбиотических способностей, основанной на биоинформационном анализе бактериального генома.

Наличие определенных генов в бактериях позволяет заранее предполагать их симбиотический потенциал. Принималось участие в анализе геномов бактерий из семейства *Microbacteriaceae*, образующих ассоциативные симбиотические сообщества с растениями и почвенных бактерий рода *Achromobacter*, способных метаболизировать глифосат и схожие фосфорорганические соединения в почве.

Показано сравнение устойчивости трансгенных колонизированных растений рапса по сравнению с контрольными.

Pigoleva SV и др. (2020) Effects of Associative Microorganisms on Plant Growth and Resistance to Xenobiotics and Phytopathogens. *Appl Biochem Micro+* (ИФ 1.022)



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





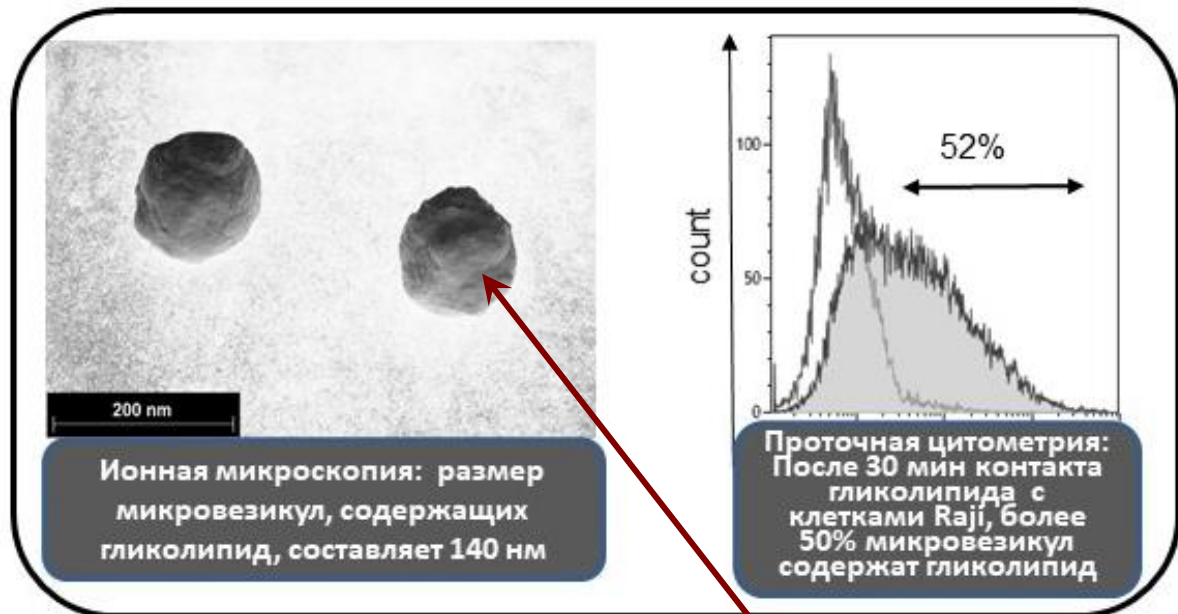
ОТДЕЛ ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ ГЛИКАНОВ И ЛИПИДОВ (рук. д.х.н. Н.В. Бовин)

ИФ 59,7

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

ИФ 16,1

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



Localization of synthetic glycolipids in the cell and the dynamics of their insertion/loss. *Glycobiology*, submitted

Проблема

Механизм обмена гликолипидами между клетками неизвестен

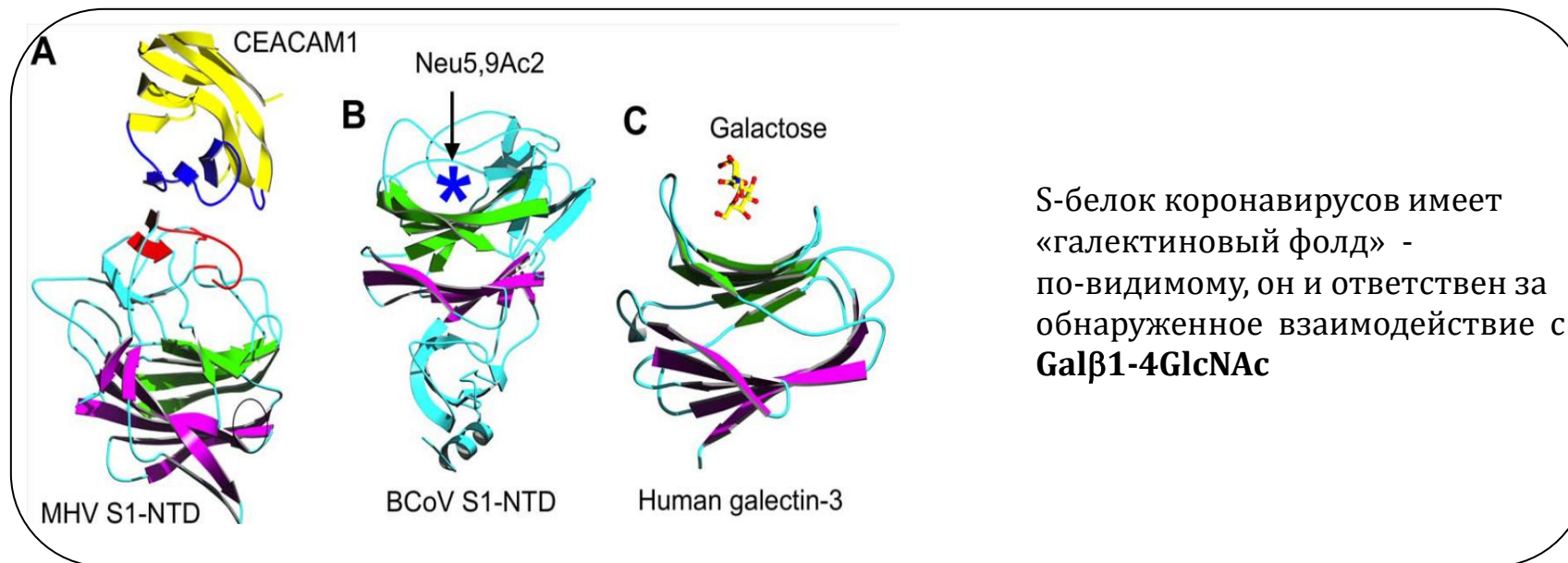
Как решаем

Нагружаем клетки синтетическими гликолипидами и отслеживаем их выход из клетки

Результаты

1. гликолипиды выходят из клетки в составе микровезикул;
2. микровезикулы накапливаются в виде патчей (по 10-20 микровезикул) В интерфейсе мембрана/гликокаликс;
3. гликолипиды входят в клетку примерно за 1 час), а в виде везикул выходят за ~24 ч

S-БЕЛОК SARS-CoV-2 СВЯЗЫВАЕТ ЛАКТОЗАМИНОВЫЕ УГЛЕВОДНЫЕ ЦЕПИ



Проблема

Есть ли у вируса второй сайт связывания, углеводный?

Как решаем

1. ИФА для рекомбинантного S-белка (от Вектора), с 200 синтетическими гликанами;
2. гликочип (400 гликанов) + целый вирус (от Института гриппа).

Результаты

Семейство гликанов с общим мотивом Galβ1-4GlcNAc связывается с S-белком.

Чем это нам грозит

Структура Galβ1-4GlcNAc обнажается под действием нейраминидазы вируса гриппа, то есть, грипп должен облегчать инфекцию коронавирусом.

Ryzhikov AB и др. Recombinant S protein of SARS-CoV-2 *in vitro* is capable of binding glycans of the lactosamine family. **Biochemistry (Mosc)**. (2021). DOI: 10.1134/S0006297921030019



ЕСТЕСТВЕННЫЕ АНТИТЕЛА МАСКИРУЮТ АЛЛО-АНТИГЕН ПЛАЦЕНТЫ

Система групп крови Lewis

Gal β 1-3
Fuc α 1-4
GlcNAc-R
фенотип Le^A, есть антитела к Le^B

Fuc α 1-2 Gal β 1-3
Fuc α 1-4
GlcNAc-R
фенотип Le^B, (почти 80% популяции),
есть антитела к Le^A

Repertoire of placenta-associated anti-glycan antibodies in preeclampsia. *J. Reproductive Immunology*, accepted

Гипотеза

Один из механизмов толерантности иммунитета матери к плоду – это маскировка материнскими естественными антителами, лишенными эффекторных свойств.

Как решаем

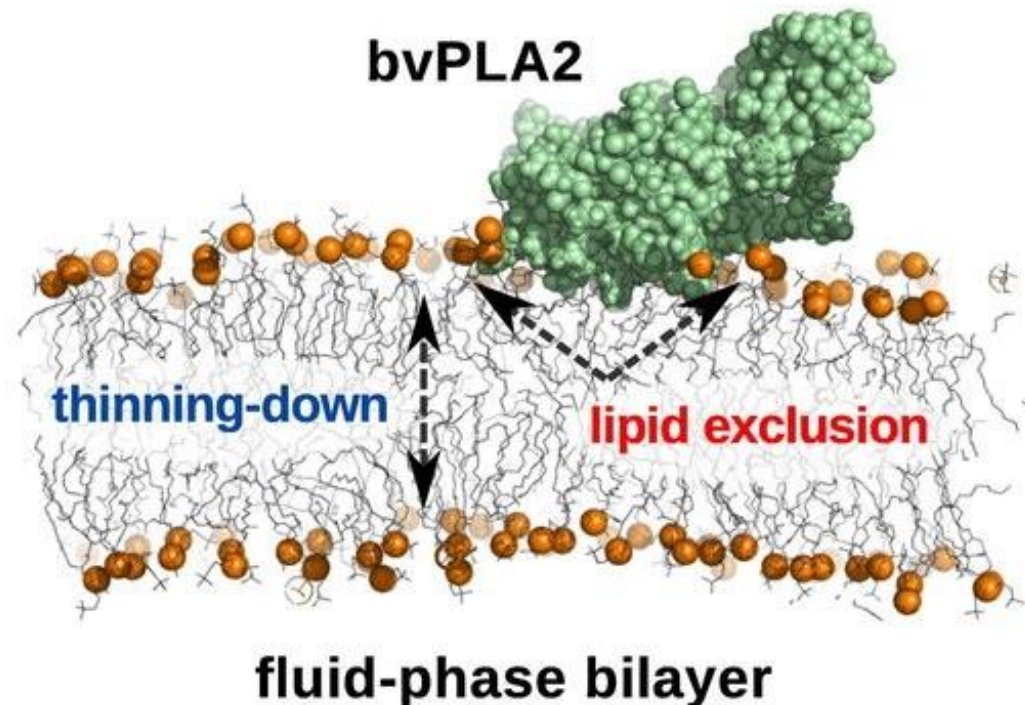
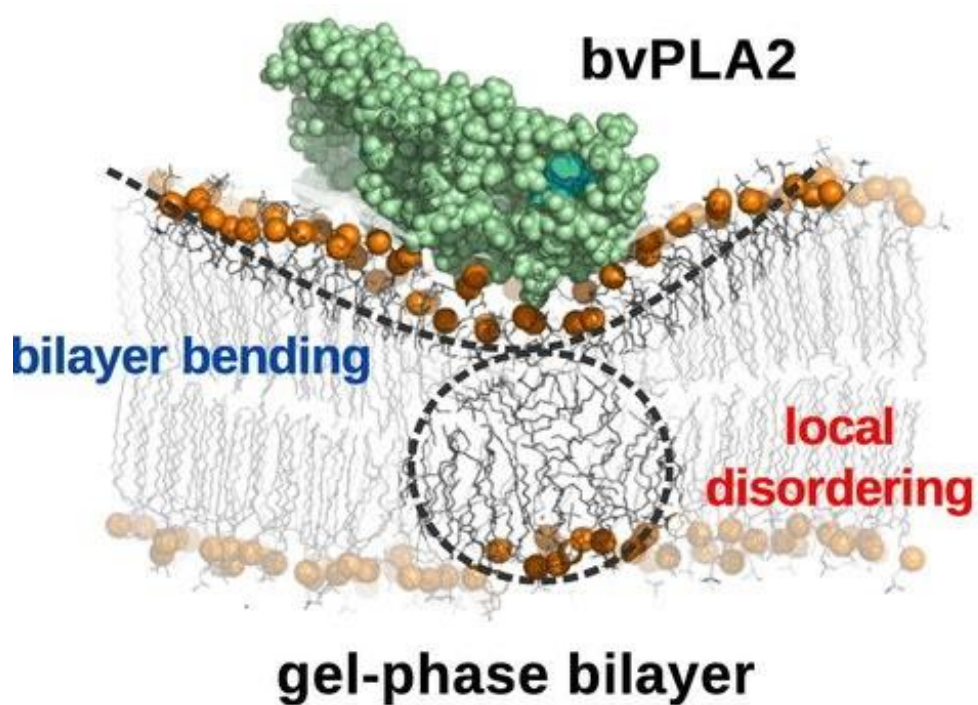
Бережно элюируем белки, связанные с плацентой, и изучаем специфичность антител элюата с помощью глико-чипа (600 гликанов).

Результаты:

1. с плаценты действительно элюируются IgG нескольких специфичностей;
2. при системном заболевании беременных преэклампсии, репертуар элюированных антител значительно сужается;
3. у всей когорты здоровых беременных элюируются «несовместимые» анти-LeA (независимо от группы крови Le).

Что с этим делать

Выделять антитела и прояснять, как устроен их Fc.



С помощью комбинации экспериментальных и вычислительных методов получены данные о механизме первого этапа взаимодействия фосфолипазы А2 с липидной мембраной. При контакте фермента с мембраной формируется сеть водородных связей, что приводит к деформации бислоя и образованию вмятины в зоне контакта. Реакция липидного бислоя на деформацию зависит от его фазового состояния. Предположительно, способность бислоя адаптироваться к деформации за счет перераспределения липидов определяет скорость начальных стадий катализа.

1. Alekseeva AS и др. (2021) Phospholipase A2 way to hydrolysis: Dint formation, hydrophobic mismatch, and lipid exclusion. *Biochim Biophys Acta* (ИФ 3.411)
2. Алексеева АС и др. (2020) Фосфолипаза А2. Методы мониторинга активности. *Biol Membrany* (ИФ 0.134)



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





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

ИФ 53,7

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

ИФ 44,1

- **Группа синтетической биологии**
К.С. Саркисян

ИФ 39,3

- **Группа метаболической инженерии растений**
Т.Ю. Матюшкина



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





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

ИФ 16,3

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

ИФ 30,5

- **Лаборатория полимеров для биологии**
А.Н. Генералова

ИФ 21,4

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

ИФ 9,8

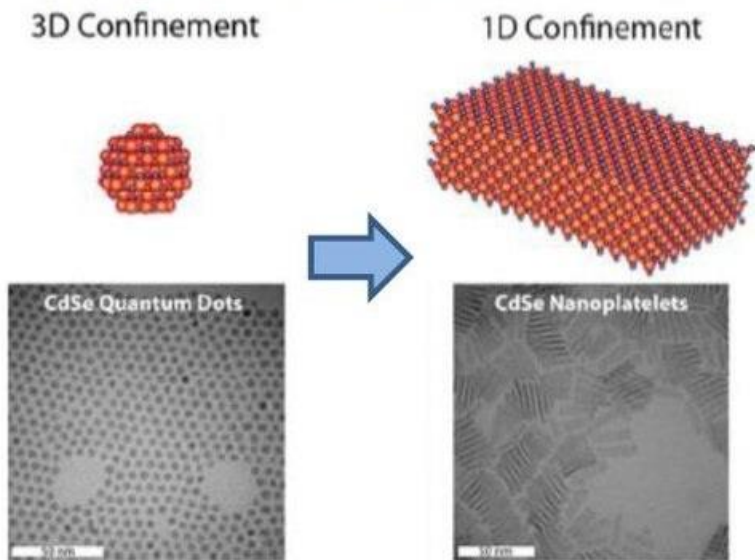
- **Лаборатория иммунохимии**
А.Ф. Бровко

ИФ 3,2

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

НОВЫЕ ЭФФЕКТИВНЫЕ ФЛУОРОФОРЫ С ДВУХФОТОННЫМ ВОЗБУЖДЕНИЕМ ДЛЯ ВИЗУАЛИЗАЦИИ КЛЕТОК НА ОСНОВЕ КВАНТОВЫХ НАНОПЛАСТИНОК

Эффективность двухфотонного возбуждения нанопластинок уникально высока: на порядок выше, чем у квантовых точек и на два порядка выше, чем у органических красителей



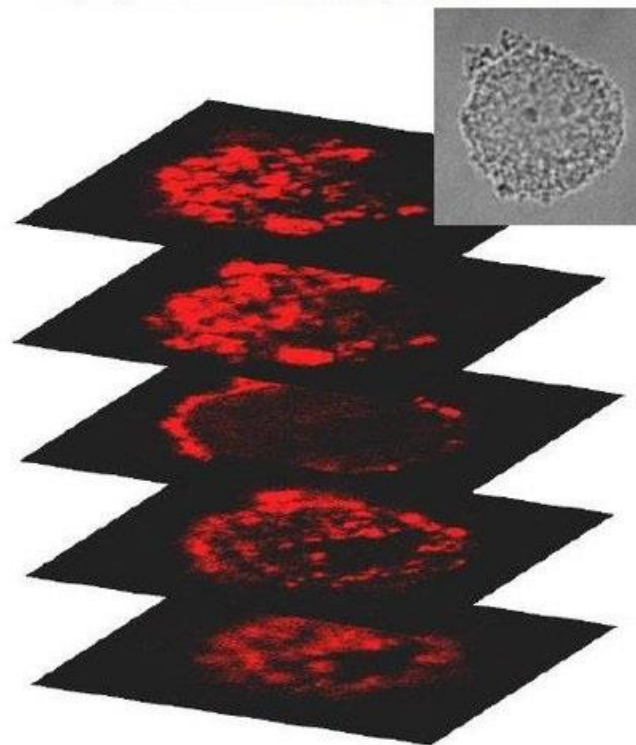
Значения 2P поглощения:

$$A_{\text{QDs}} \sim 10^3 - 10^4 \text{ GM}$$

$$A_{\text{QPlatelets}} \sim 10^4 - 10^6 \text{ GM}$$

$$A_{\text{R6G}} \sim 60 \text{ GM}$$

Флуоресцентное изображение клетки глиомы С6, меченной CdSSe нанопластинами при двухфотонном возбуждении

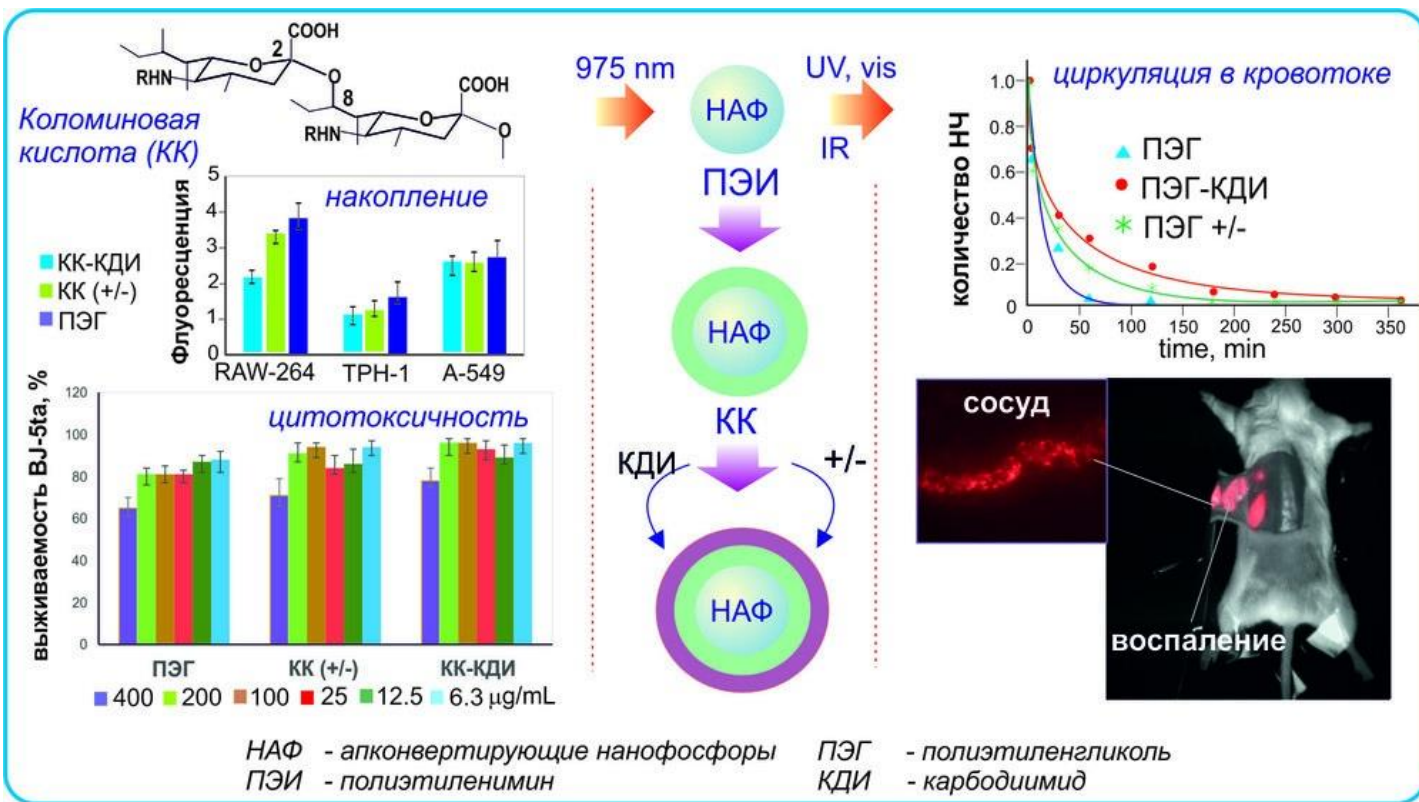


Методом двухфотонной флуоресцентной микроскопии мы продемонстрировали, что нанопластины дают на порядок больший флуоресцентный отклик. Это позволяет использовать их в качестве высокоэффективных флуоресцентных двух-фотонных меток в биомедицине.

Показано, что, несмотря на гораздо больший латеральный размер по сравнению с квантовыми точками, они могут эффективно поглощаться клетками. Благодаря более высокой эффективности возбуждения фотolumинесценции 1P и 2P, новые флуорофоры позволяют осуществлять детектирование и визуализацию при гораздо более низкой концентрации нанопластинок внутри клеток по сравнению с квантовыми точками. Это особенно важно в случае специфической детекции небольших количеств определенных белков в клетках.

Radchanka A и др. (2020) Emitters with different dimensionality: 2D cadmium chalcogenide nanoplatelets and 0D quantum dots in non-specific cell labeling and two-photon imaging. *Nanotechnology* (ИФ 3.551)

УНИВЕРСАЛЬНАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ БИОИМИДЖИНГА НА ОСНОВЕ АПКОНВЕРТИРУЮЩИХ НАНОКРИСТАЛЛОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ КОЛОМИНОВОЙ КИСЛОТОЙ

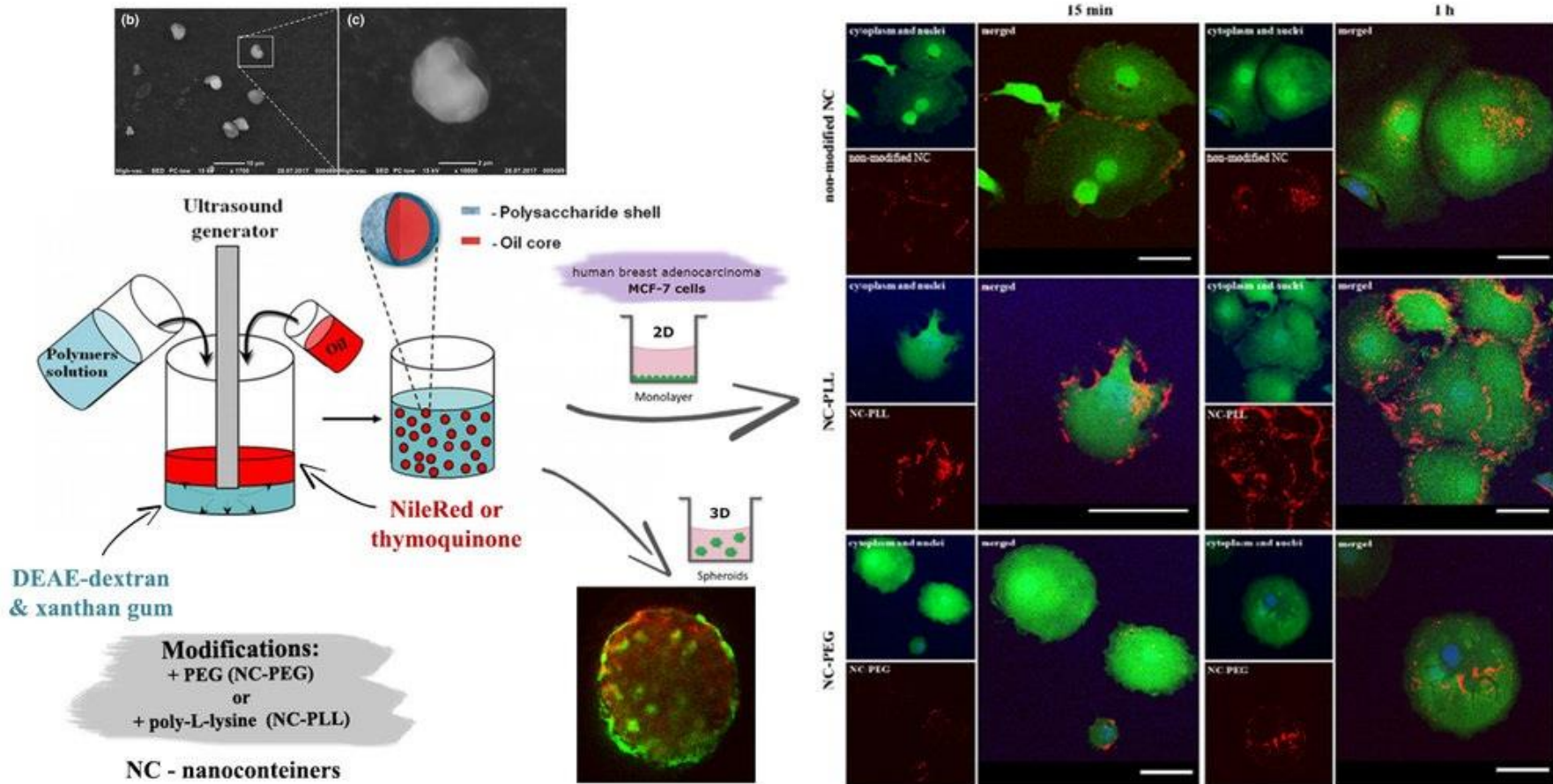


Нанокристаллы с антистоксовой флуоресценцией (НАФ) являются перспективной платформой для создания биореагентов при *in vivo* визуализации патологических тканей под действием ближнего инфракрасного излучения, способного проникать глубоко в биоткани, сохраняя высокое соотношение сигнал/шум. Успешное применение НАФ связано с биофункционализацией их поверхности, обеспечивающей нетоксичность и биосовместимость наряду с длительным временем циркуляции наночастиц в кровотоке и их накоплением в целевой ткани.

- В данной работе представлен подход к биофункционализации НАФ с использованием эндогенной коломиновой кислоты и создания реагентов, которые характеризовались низким уровнем неспецифической адсорбции белков и захвата макрофагами.
- Данный подход позволил увеличить время циркуляции в кровотоке малых животных до 3-х часов, регистрировать интенсивный фотолюминесцентный сигнал в воспалительной ткани, а также визуализировать микро- и макро-кровеносные сосуды.

Работа проводилась совместно с ФНИЦ «Кристаллография и фотоника», РОНЦ им. Н.Н. Блохина и Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.

Demina PA и др. (2020) A versatile platform for bioimaging based on colomincic acid-decorated upconversion nanoparticles. *Biomater Sci* (ИФ 6.183)



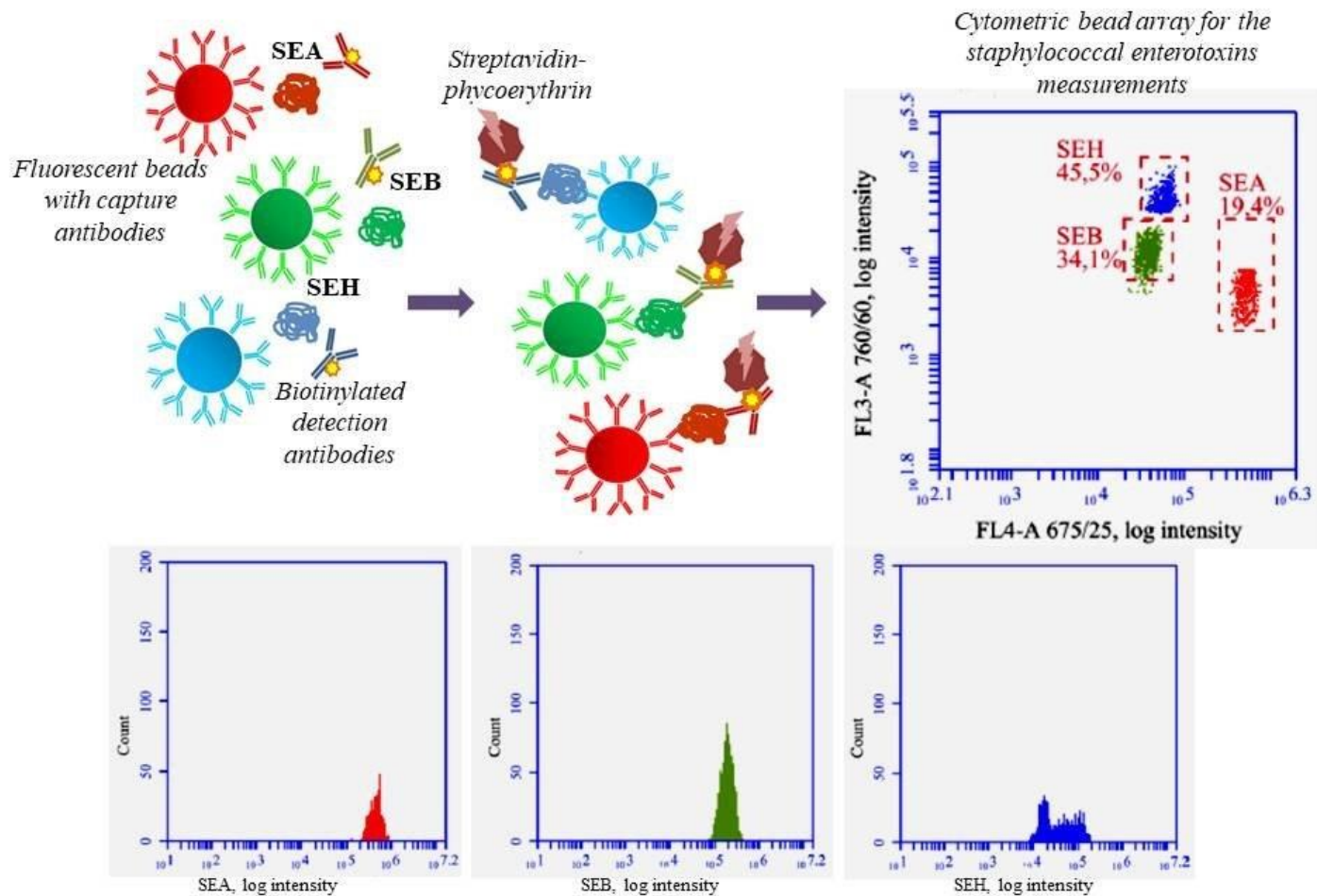
Разработаны биodeградируемые полиэлектролитные наноконтейнеры на основе природных полисахаридов, загруженные липофильным противораковым препаратом тимохиноном.

Эффективность накопления в клетках и цитотоксичность наноконтейнеров изучили на культурах раковых клеток в 2D (монослойная культура) в 3D (опухолевые сфероиды) *in vitro* моделях. Показана возможность их использования для пролонгированной доставки различных противораковых липофильных лекарств.

Совместно с ФНИЦ "Кристаллография и фотоника РАН".

Borodina T и др. (2020) Fabrication and evaluation of nanocontainers for lipophilic anticancer drug delivery in 3D *in vitro* model. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* (ИФ 2.831)

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ОДНОВРЕМЕННОГО АНАЛИЗА ТРЕХ СТАФИЛОКОККОВЫХ ЭНТЕРОТОКСИНОВ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ С ПРИМЕНЕНИЕМ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫХ МИКРОСФЕР И ПРОТОЧНОЙ ЦИТОФЛУОРИМЕТРИИ



Одной из причин болезней, ассоциированных с пищевыми отравлениями, является заражение токсигенными стафилококками. Высокая стабильность энтеротоксинов стафилококков (SE) обуславливает необходимость усовершенствования методов контроля качества пищевых продуктов.

- ❑ Разработан высокочувствительный метод для одновременного количественного анализа трех стафилококковых энтеротоксинов (SEA, SEB и SEH) методом проточной цитофлуориметрии.
- ❑ Для обнаружения SE использовали функциональные микросферы, связанные с моноклональными антителами захвата, биотинилированные детектирующие моноклональные антитела и конъюгированный с фикоэритрином стрептавидин. Линейные диапазоны обнаружения SEA, SEB и SEH составляли 0,02–20 нг/мл, 0,2–30 нг/мл и 0,2–20 нг/мл соответственно.
- ❑ Каждый из токсинов детектировался специфично без перекрестных реакций, компоненты среды детекции не влияли на специфичность и чувствительность определения.

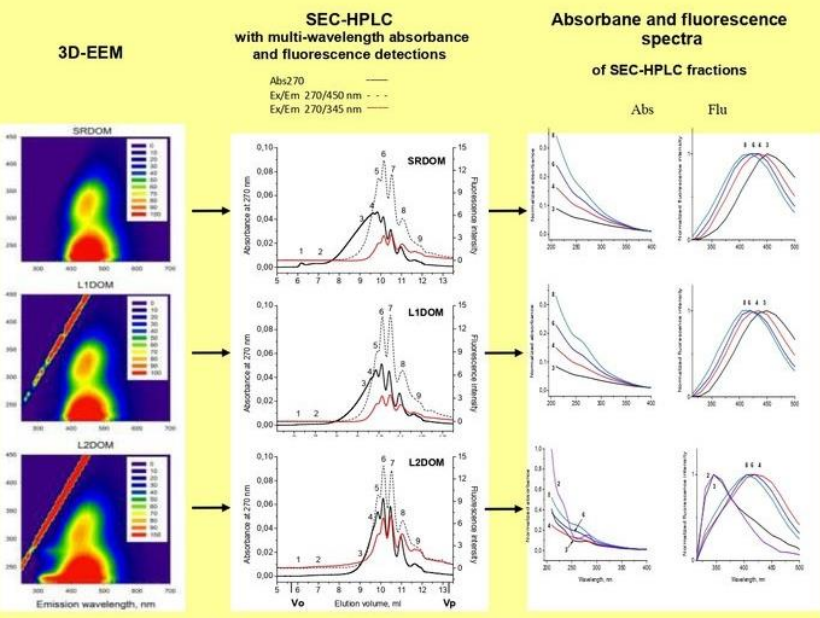
Shepelyakovskaya A и др. (2020) Development of a Bead-Based Multiplex Assay for the Simultaneous Quantification of Three Staphylococcal Enterotoxins in Food by Flow Cytometry. *Food Anal Method* (ИФ 2.667)

Растворенное органическое вещество – водные гуминовые вещества

Река Сувани (Джорджия, США) чистая вода

Водопроводное озеро (Карелия, Россия) чистая вода

Онежское озеро, Кондопожский залив (Карелия, Россия) антропогенное загрязнение



Комбинация высокоэффективной эксклюзивной жидкостной хроматографии (SEC-HPLC) в сочетании с мультимолновыми детекторами поглощения/флуоресценции и метода трехмерной флуоресценции (3D-EEM) была **впервые** применена для структурного анализа растворенного органического вещества (РОВ) нескольких природных водоемов и экспресс-оценки их антропогенного загрязнения. Для этой цели были использованы препараты РОВ, выделенные из двух чистых водных источников – заповедной реки Сувани (Джорджия, США) и карельского заповедного Водопроводного озера, расположенного около БС МГУ, а также из северо-западной части Онежского озера (Кондопожский залив), экосистема которого подвергалась постоянному антропогенному воздействию Кондопожского ЦБК.

☐ Независимо от генезиса и степени антропогенного влияния во всех исследованных образцах РОВ было **впервые** обнаружено несколько идентичных гуминоподобных флуорофоров, причем уменьшение максимумов эмиссии флуорофоров сопровождалось уменьшением их молекулярного размера. В образце РОВ из Онежского озера, кроме гуминоподобных флуорофоров, была зафиксирована протеиноподобная флуоресценция, детектированная по всему хроматографическому профилю. Наличие белковой компоненты было подтверждено анализом спектров флуоресценции с характерным максимумом эмиссии в районе 350 нм и соответствующими спектрами поглощения с максимумами в районе 270-280 нм.

☐ Полученные данные помогают лучше понять молекулярную структуру и природу флуоресцентных свойств РОВ природной воды. Разработанный подход также является эффективным для изучения микробной активности в природных водах в результате антропогенного загрязнения.

Trubetskaya OE и др. (2020) Evaluation of aliphatic/aromatic compounds and fluorophores in dissolved organic matter of contrasting natural waters by SEC-HPLC with multi-wavelength absorbance and fluorescence detections. *Spectrochim Acta A* (ИФ 3.232)



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





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

ИФ 183,2

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

ИФ 40,7

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

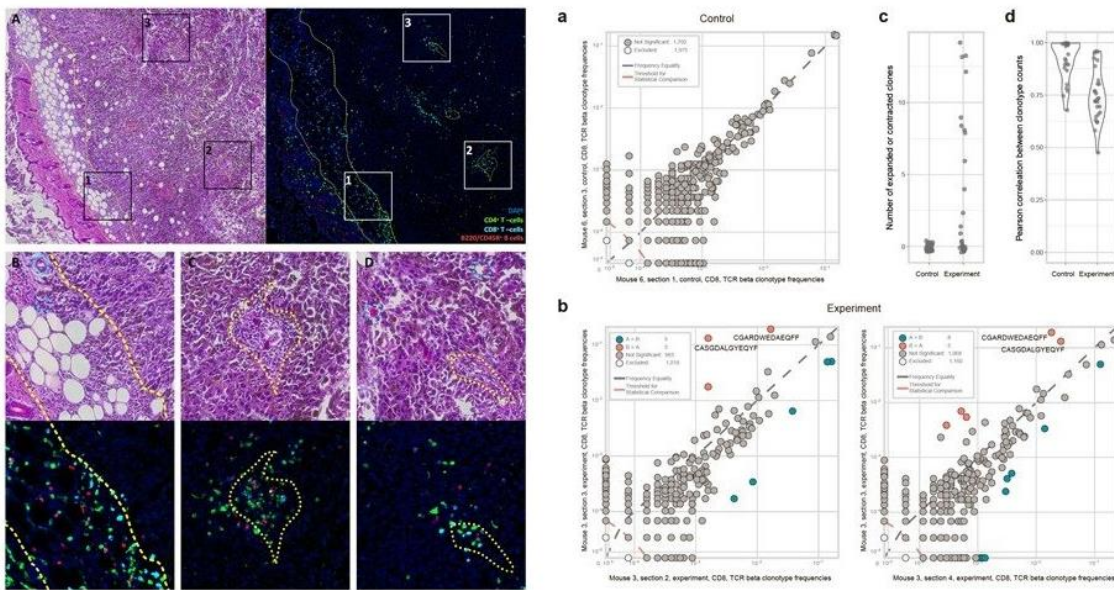
ИФ 119,5

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

ИФ 86,1

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

Local T cell expansions in B16F0 mouse melanoma

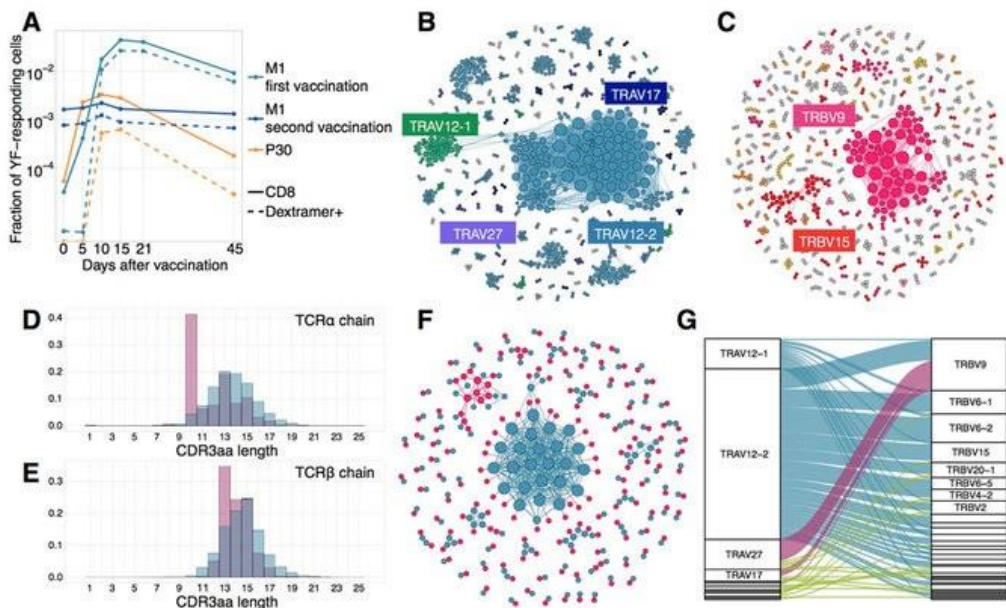


Training noise model

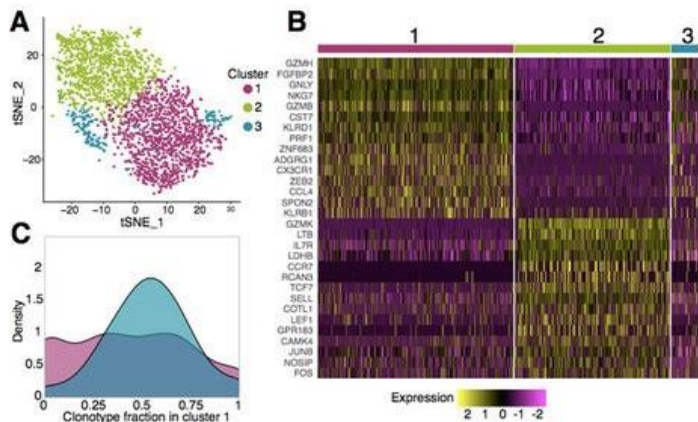
- ❑ Описаны две функционально различные субпопуляции CD8+ стволовых клеток памяти.
- ❑ Разработан новый подход для оценки клональной гетерогенности опухоль-инфильтрирующих Т-лимфоцитов.
- ❑ Показано, что стабильно клональный Т клеточный ответ ассоциирован с ответом на анти-PD1 иммунотерапию.
- ❑ Охарактеризован Т-клеточный репертуар никель-специфичных CD4+ Т-лимфоцитов.
- ❑ Исследован репертуар гамма-дельта Т лимфоцитов вовлеченных в противоопухолевый ответ.
- ❑ Проведен сравнительный анализ репертуаров фолликулярных хелперных Т-лимфоцитов.
- ❑ Проведено глубокое сравнительное исследование методов анализа репертуаров Т-клеточных рецепторов.

1. Galletti G и др. (2020) Two subsets of stem-like CD8+ memory T cell progenitors with distinct fate commitments in humans. *Nat Immunol* (ИФ 20.479)
2. Yuzhakova DV и др. (2020) Measuring Intratumoral Heterogeneity of Immune Repertoires. *Front Oncol* (ИФ 4.848)
3. Zhigalova EA и др. (2020) RNA-Seq-Based TCR Profiling Reveals Persistently Increased Intratumoral Clonality in Responders to Anti-PD-1 Therapy. *Front Oncol* (ИФ 4.848)
4. Aparicio-Soto M и др. (2020) TCRs with segment TRAV9-2 or a CDR3 histidine are overrepresented among nickel-specific CD4+ T cells. *Allergy* (ИФ 8.706)

5. Janssen A и др. (2020) $\gamma\delta$ T-cell Receptors Derived from Breast Cancer-Infiltrating T Lymphocytes Mediate Antitumor Reactivity. *Cancer Immunol Res* (ИФ 8.728)
6. Brenna E и др. (2020) CD4 T Follicular Helper Cells in Human Tonsils and Blood Are Clonally Convergent but Divergent from Non-Tfh CD4 Cells. *Cell Rep* (ИФ 8.109)
7. Barennes P и др. (2020) Benchmarking of T cell receptor repertoire profiling methods reveals large systematic biases. *Nat Biotechnol* (ИФ 36.558)
8. De Simone G и др. (2019) CXCR3 Identifies Human Naive CD8 T Cells with Enhanced Effector Differentiation Potential. *J Immunol* (ИФ 4.886)



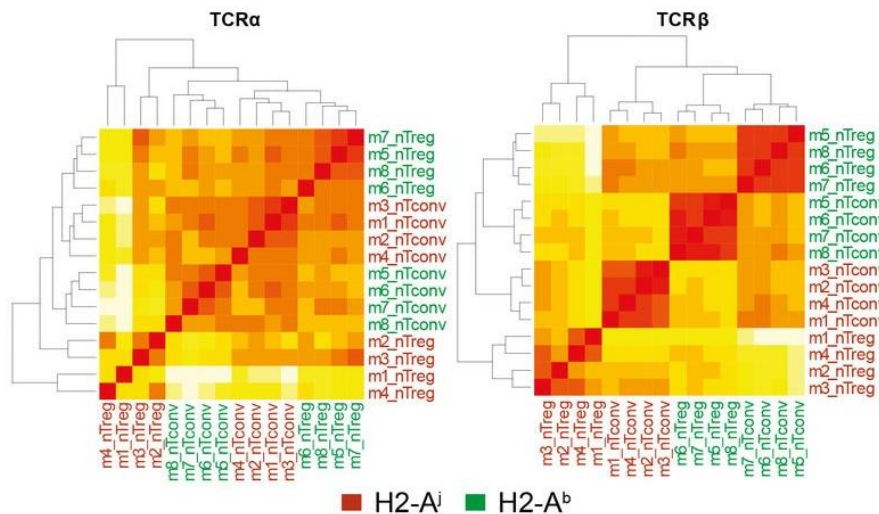
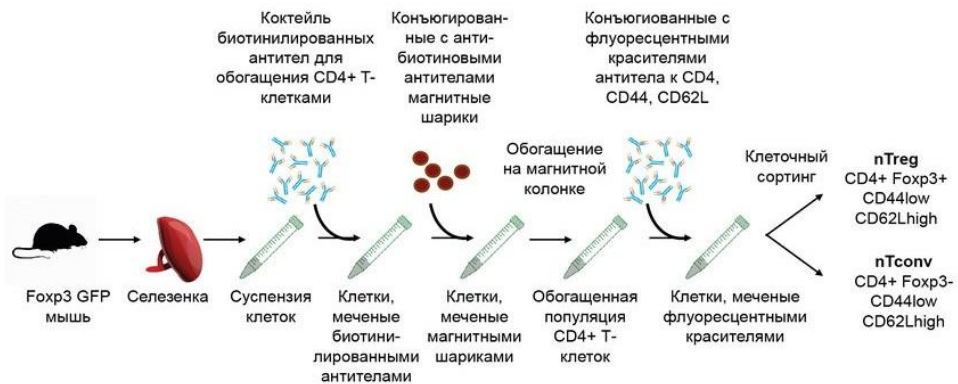
- По результатам высокопроизводительного секвенирования одновременно α и β цепей Т-клеточных рецепторов ($\alpha\beta$ TCR), а также РНК-секвенирования единичных Т-клеток определены закономерности формирования Т-клеточного иммунного ответа на вакцинацию против вируса желтой лихорадки (YFV).
- У каждого из обследованных доноров идентифицированы обширные группы YFV-ассоциированных Т-клонов, претерпевающих 100-кратную клональную экспансию, приобретающих свойства клеток памяти и узнающих иммунодоминантный эпитоп YFV.
- Для последних с использованием оригинальной методики реконструированы структуры полных $\alpha\beta$ TCR.
- На разных стадиях иммунного ответа для CD4 и CD8 Т-клеток памяти показано преобладание клонов CM, EM, EMRA и др. иммунофенотипов со свойствами цитотоксических или долгоживущих Т-лимфоцитов.



Minervina AA и др. (2020) Primary and secondary anti-viral response captured by the dynamics and phenotype of individual T cell clones. *Elife* (7.08)

ВЛИЯНИЕ АЛЛЕЛЕЙ МНС-II НА ФОРМИРОВАНИЕ РЕПЕРТУАРА Т КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НАИВНЫХ CD4+ И НАИВНЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ

Схема эксперимента



Кластеризация образцов по параметрам репертуаров Т-клеточных рецепторов

В ходе исследования формирования наивных CD4+ Т-лимфоцитов в разном контексте МНС-II в мышах, мы обнаружили, что дефективная селекция CD4+ Т-клеток в мышах с аллельным вариантом МНС-II j сопровождается отбором менее разнообразного и более публичного репертуара Т-клеточных рецепторов.

В то же время, селекция на аллельном варианте j поддерживает образование CD4+ Т-клеток в среднем с бóльшим числом гидрофобных и ароматических аминокислотных остатков в CDR3 антиген-связывающем участке Т-клеточного рецептора, что по ранее опубликованным данным свидетельствует о высокой аффинности и кросс-реактивности таких Т-клеточных рецепторов.

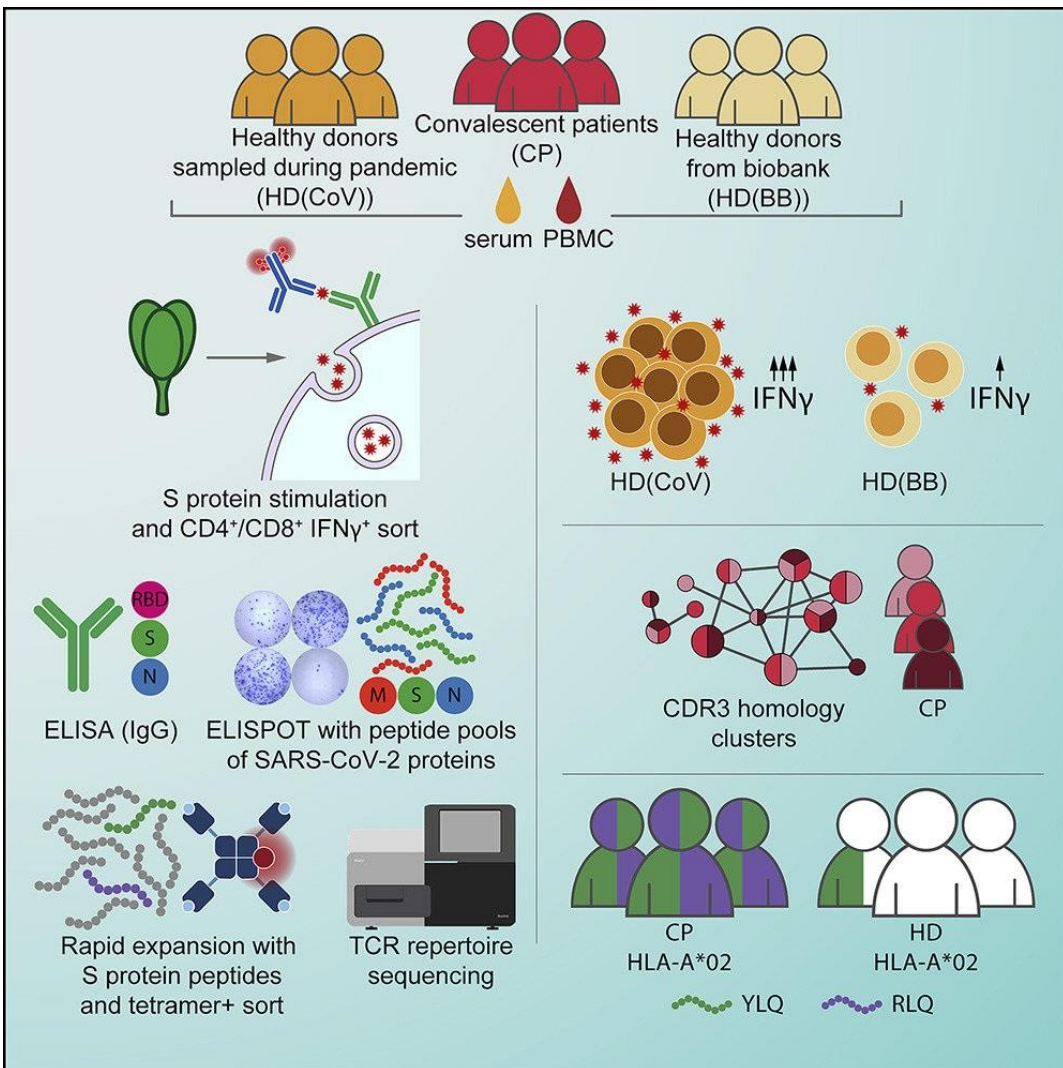
Регуляторные CD4+ Т-клетки, несущие Т-клеточные рецепторы с еще более гидрофобными и аффинными CDR3 участками, в нашей мышинной модели эффективно вступают в гомеостатическую пролиферацию на периферии, восстанавливая численность своей популяции, несмотря на дефективную селекцию на МНС-II j в тимусе.

Интересно, что это различие в среднем числе гидрофобных и ароматических остатков в CDR3 между регуляторными и конвенциональными (CD4+ Foxp3-) Т-лимфоцитами выражено сильнее при селекции на аллельном варианте МНС-II j скорее, чем b.

Мы провели функциональные in vitro тесты супрессорной активности регуляторных Т-клеток, прошедших селекцию на аллелях b или j, и обнаружили более эффективное подавление пролиферации аутологичных конвенциональных Т-клеток регуляторными клетками, прошедшими селекцию на аллели j.

Logunova NN и др. (2020) MHC-II alleles shape the CDR3 repertoires of conventional and regulatory naïve CD4 T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* (ИФ 9.412)

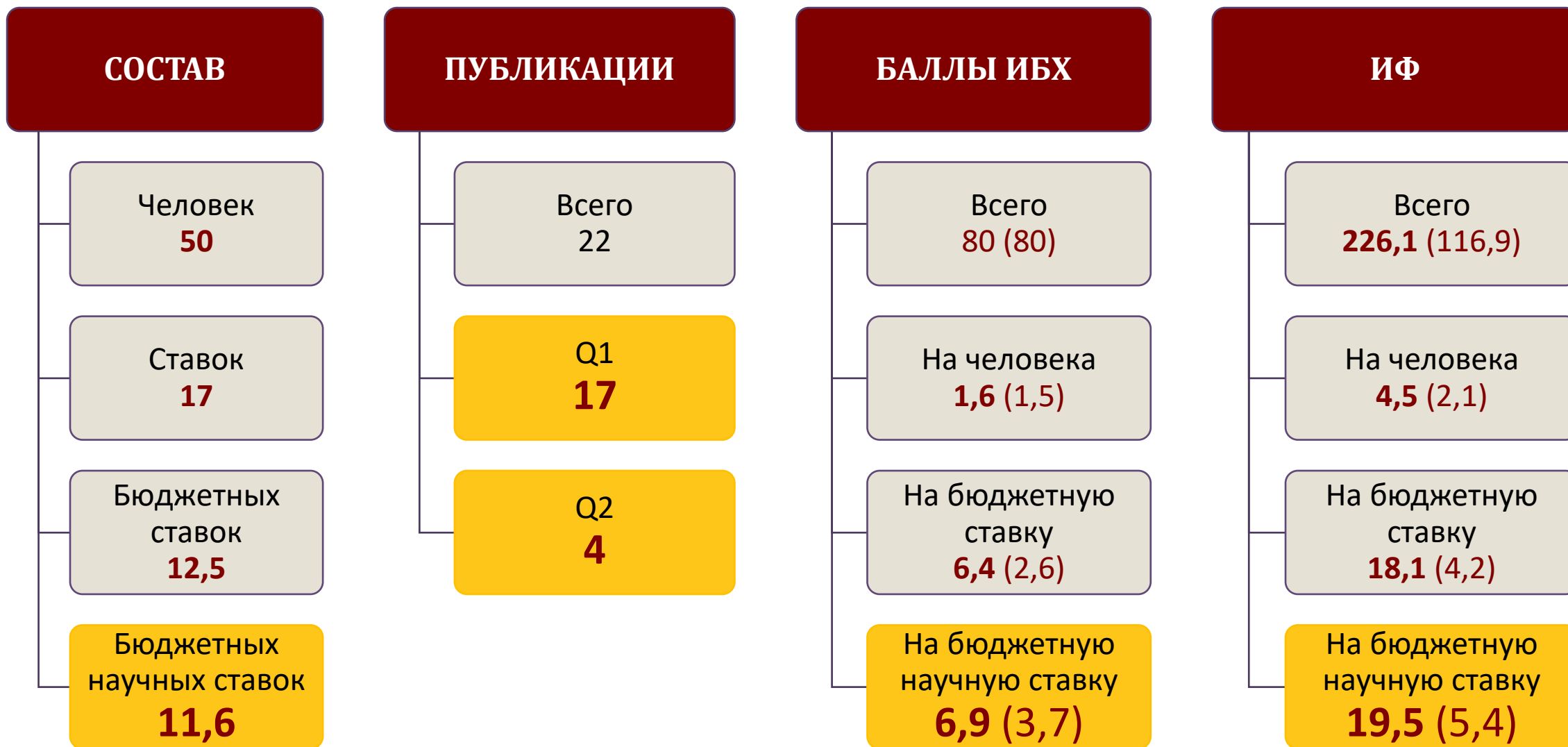
ЭПИТОПЫ SARS-CoV-2 РАСПОЗНАЮТСЯ ПУБЛИЧНЫМ И РАЗНООБРАЗНЫМ РЕПЕРТУАРОМ РЕЦЕПТОРОВ Т-КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА



Понимание признаков иммунного ответа на SARS-CoV-2 имеет решающее значение для борьбы с пандемией COVID-19. Мы оценили антитела и реактивность Т-клеток у выздоравливающих пациентов с COVID-19 и здоровых доноров, взятых как до, так и во время пандемии.

- ❑ Здоровые доноры, обследованные во время пандемии, показали повышенное количество Т-клеток, специфичных для SARS-CoV-2, но не имели гуморального ответа. Их вероятное воздействие вируса привело либо к бессимптомной инфекции без секреции антител, либо к активации ранее существовавшего иммунитета.
- ❑ У выздоравливающих пациентов мы наблюдали публичный и разнообразный Т-клеточный ответ на эпиптопы SARS-CoV-2, выявляя мотивы Т-клеточного рецептора (TCR) с особенностями, кодируемыми зародышевой линией. Массовые ответы CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток на спайковый гликопротеин были опосредованы группами гомологичных TCR, некоторые из которых были общими для нескольких доноров.
- ❑ В целом, наши результаты демонстрируют, что Т-клеточный ответ на SARS-CoV-2, включая идентифицированный набор TCR, может служить полезным биомаркером для изучения противовирусного иммунитета.

Shomuradova AS. (2020) SARS-CoV-2 epitopes are recognized by a public and diverse repertoire of human T cell receptors. *Immunity* (ИФ 22.553)





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

ИФ 101,9

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

ИФ 23

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

ИФ 1,4

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

ИФ 43,7

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

ИФ 30,1

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

ИФ 212

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

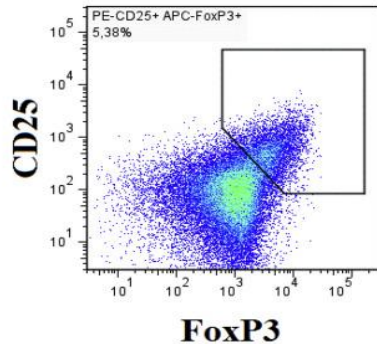
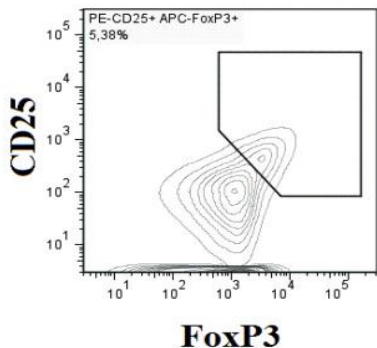
ИФ 19,5

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

ИФ 25,2

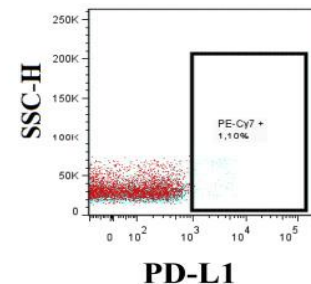
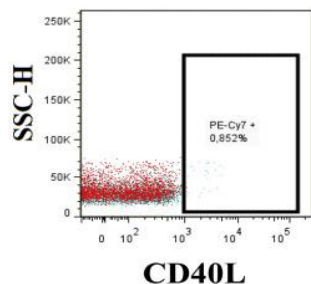
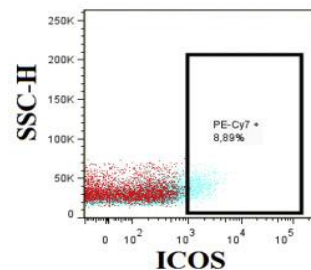
- **Группа электронной микроскопии**
Е.А. Образцова

A Gated on CD4+CD45+



Пример анализа фенотипа Трег крови с помощью иммунофенотипирования и проточной цитофлуориметрии.

B Gated on Foxp3+CD25+



Изучены размеры популяции и фенотип регуляторных Т-клеток пациентов с ревматоидным артритом. Это клиническое исследование показало, что:

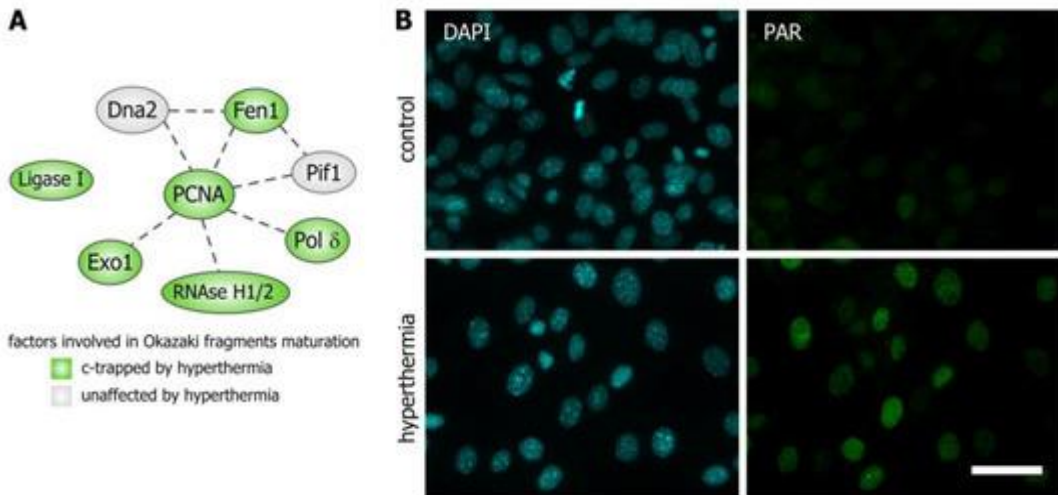
- ❑ ранние пациенты с нелеченным ревматоидным артритом имеют существенный дефект в Трег крови;
- ❑ снижение количества Трег у пациентов с РА связано со снижением экспрессии ISOS, CD40L и PD-L1 на поверхности клеток;
- ❑ лечение метотрексатом (MT) восстанавливает количество и экспрессию маркеров активации Трег;
- ❑ поверхностная экспрессия CTLA4 может использоваться для оценки ответа на лечение MT.

Исследование проведено совместно с:

- *Институтом ревматологии им. Насоновой*

Avdeeva A, Rubtsov Yu. и др. Regulatory T cells in patients with early untreated rheumatoid arthritis: Phenotypic changes in the course of methotrexate treatment. *Biochimie (ИФ 3.413)*

ЗА СЧЕТ ЧЕГО ГИПЕРТЕРМИЯ УСИЛИВАЕТ ЭФФЕКТЫ ХИМИО- И РАДИОТЕРАПИИ

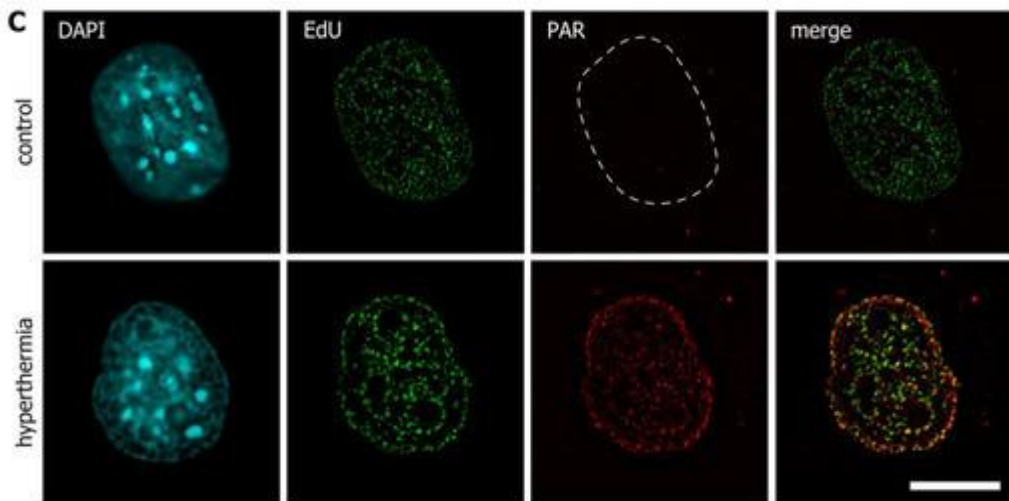


Расшифрованы молекулярные механизмы того, как гипертермия, применявшаяся для усиления эффекта химио- и радиотерапии, может влиять на чувствительность раковых клеток к этим традиционным видам лечения.

Оказалось, что нагрев приводит к «залипанию» факторов транскрипции и белков, участвующих в организации структуры хроматина, регуляции транскрипции и репликации, что делает репарацию ДНК менее эффективной, приводя, тем самым, к гибели трансформированных клеток.

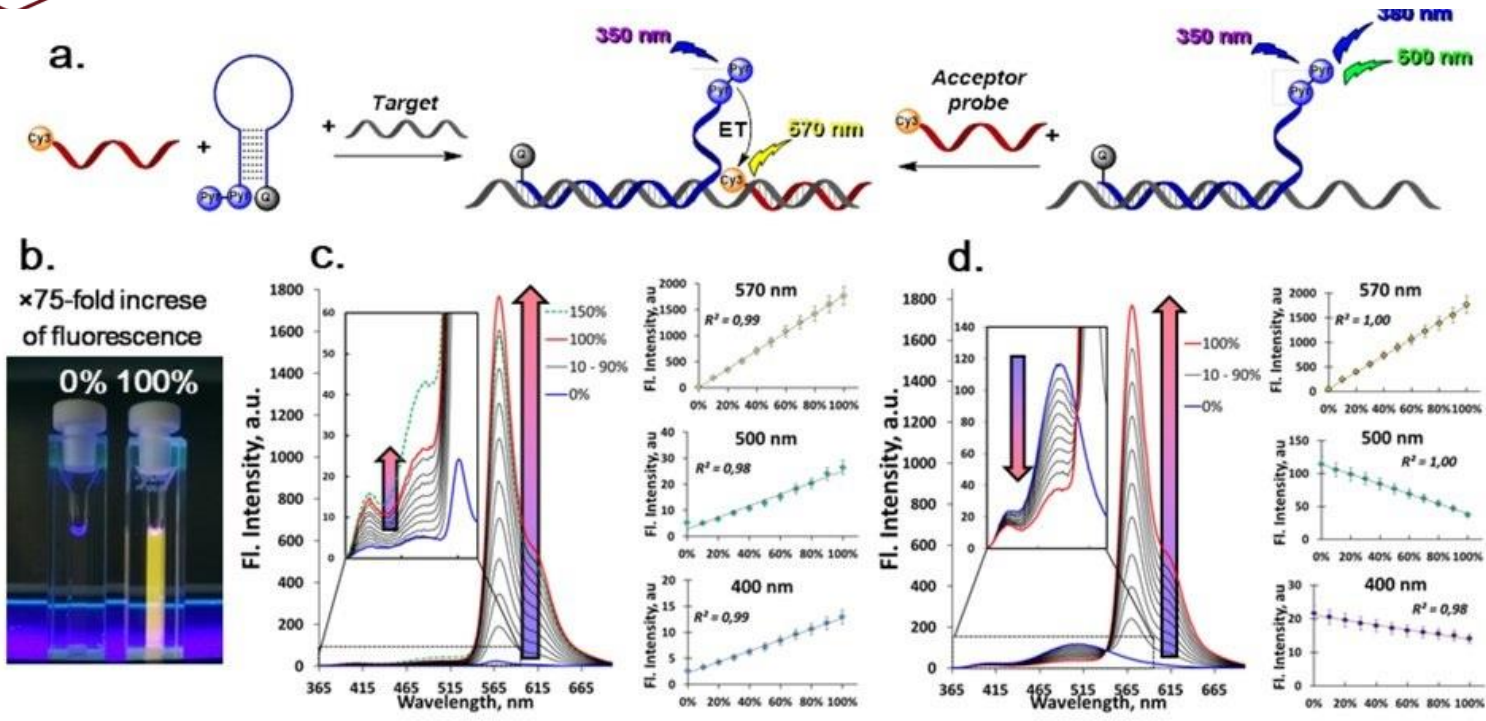
Исследование проведено совместно с:

- Кафедрой молекулярной биологии Биофака МГУ



Активация поли-АДФ-рибозилирования, сопряженного с репликацией в ответ на нагрев. На рисунке видно окрашивание хроматина и фермента, осуществляющего поли-АДФ-рибозилирование.

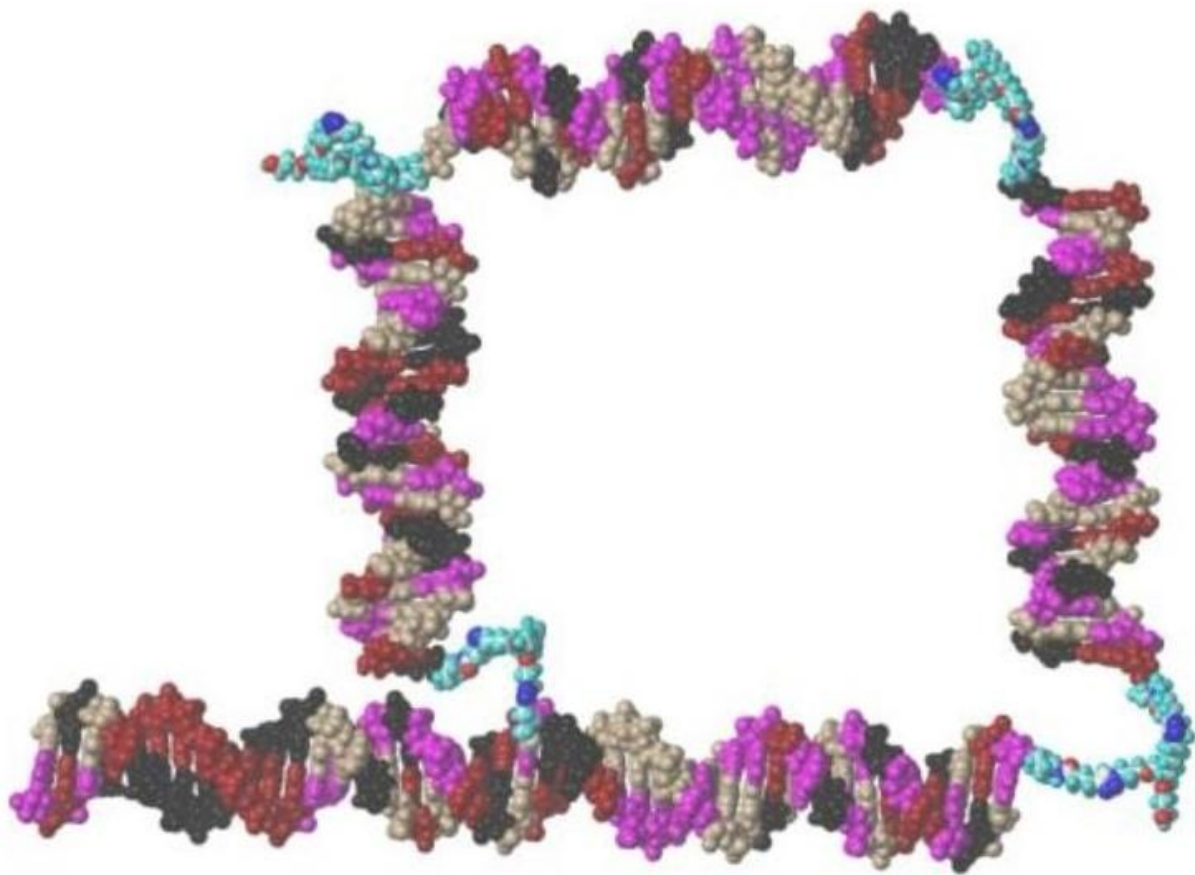
Luzhin AV и др. (2020) Chromatin Trapping of Factors Involved in DNA Replication and Repair Underlies Heat-Induced Radio- and Chemosensitization. *Cells* (ИФ 4.366)



Aparin IO и др. (2020) Excimer-FRET Cascade in Dual DNA Probes: Open Access to Large Stokes Shift, Enhanced Acceptor Light up, and Robust RNA Sensing. *Anal Chem* (ИФ 6.785)

Эффективность гибридного анализа с помощью флуоресцентных ДНК-зондов зачастую ограничивается низким соотношением сигнал/фон, которое может быть частично преодолено сложными методами усиления сигнала. Глубокое понимание механизмов тушения флуоресценции и передачи энергии в сложных ДНК-зондах, а также выбор оптимальных пар донор/акцептор наряду с рациональным дизайном могут значительно повысить эффективность работы ДНК-зондов.

- Мы предлагаем новые бинарные FRET-ДНК-зонды с эксимеробразующей пиреновой парой в качестве донора и красителем сульфо-Су3 в качестве акцептора.
- Зонды продемонстрировали 75-кратное улучшение флуоресценции сульфо-Су 3 при гибридизации с мишенью. Стоксов сдвиг 220 нм минимизирует перекрестные помехи. Однофотонный отсчёт времени позволил выявить два возбужденных состояния пиренового эксимера, из которых лишь одно непосредственно участвует в резонансном переносе энергии на сульфо-Су3.
- Оптимизированные ДНК-зонды продемонстрировали высокую чувствительность с отличным соотношением сигнал/фон и были применены для визуализации 18S рРНК методом флуоресцентной гибридизации *in situ* в клетках HEK293T.

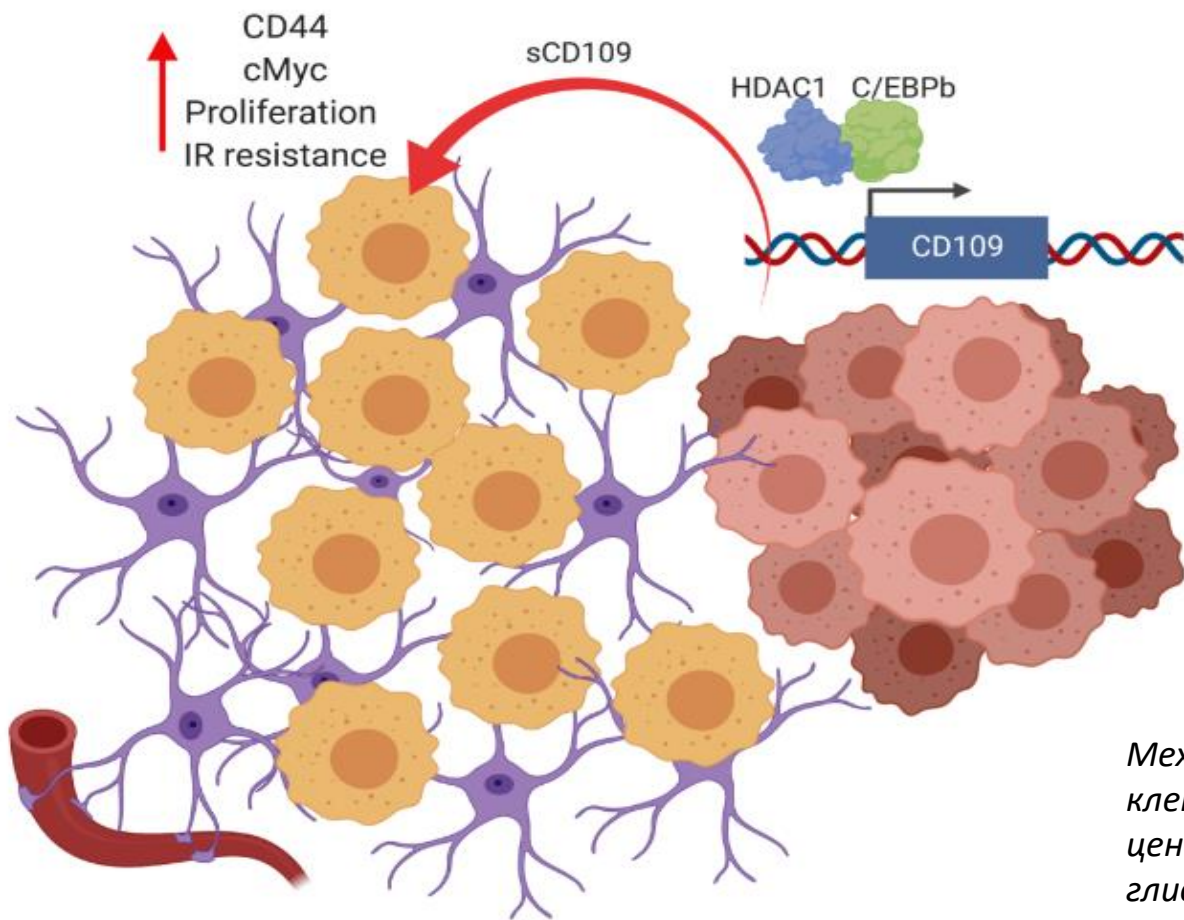


Brylev VA и др. (2020) Toehold-Mediated Selective Assembly of Compact Discrete DNA Nanostructures. *Langmuir* (3.557)

Для получения малых дискретных наноструктур ДНК, содержащих ковалентные сочленения, требуются надежные методы синтеза и сборки разветвленных олигодезоксинуклеотидных конъюгатов.

- ❑ Представлен подход к самосборке труднодостижимых простых дискретных наноструктур ДНК – "наноэтиленов", димеров, образованных двухниточными олигонуклеотидами с помощью V-образных блоков.
- ❑ Масштабирован синтез V-образных конъюгатов олигонуклеотидов с использованием диазида на основе пентаэритрита и алкин-модифицированных олигонуклеотидов с использованием медь-(I)-катализируемого азид-алкин-циклоприсоединения и оптимизированы условия образования "наноэтилена".
- ❑ Разработаны "наноэтиленовые" "наномономеры", содержащие боковые адаптеры. Такие блоки продемонстрировали плавное спонтанное преобразование в минимальный циклический продукт – ДНК-четырёхугольник "нанометилциклобутан".
- ❑ Формирование наноструктур ДНК подтверждено с использованием нативного электрофореза в полиакриламидном геле и атомно-силовой микроскопии, а также дополнительно изучено методом молекулярного моделирования.
- ❑ Предложенный легкий подход к дискретным наноструктурам ДНК с использованием точной адаптерно-направленной самосборки расширяет инструментарий в области ДНК-оригами.

ПОКАЗАНА СУЩЕСТВЕННАЯ ПРООНКОГЕННАЯ РОЛЬ КОММУНИКАЦИИ МЕЖДУ ПОПУЛЯЦИЯМИ КЛЕТОК ГЛИОБЛАСТОМЫ В ЦЕНТРЕ И НА ПЕРИФЕРИИ ОПУХОЛИ



Механизм коммуникации клеток, расположенных в центре и на периферии глиобластомы.

Bastola S*, Pavlyukov MS* и др. (2020) Glioma-initiating cells at tumor edge gain signals from tumor core cells to promote their malignancy. *Nat Commun.* (ИФ 12.121)

- ❑ Сотрудники лаборатории мембранных и биоэнергетических систем, совместно с коллегами из университета Алабамы (UAB) исследовали гетерогенность клеток глиобластомы внутри опухолей пациентов.
- ❑ Авторы продемонстрировали, что популяции клеток в центре и на периферии опухоли отличаются друг от друга по спектру чувствительности к терапии, скорости пролиферации, инвазивности и уровню экспрессии генов.
- ❑ Обнаруженные различия стабильно сохранялись *in vitro* в нейросферах, выделенных из разных участков опухоли.
- ❑ Исследование межклеточных взаимодействий показало, что клетки в центре опухоли выделяют растворимый белок CD109, стимулирующий агрессивный фенотип клеток на периферии опухоли.
- ❑ Авторы продемонстрировали, что данный сигнальный путь может быть блокирован с помощью низкомолекулярного ингибитора белка HDAC1.

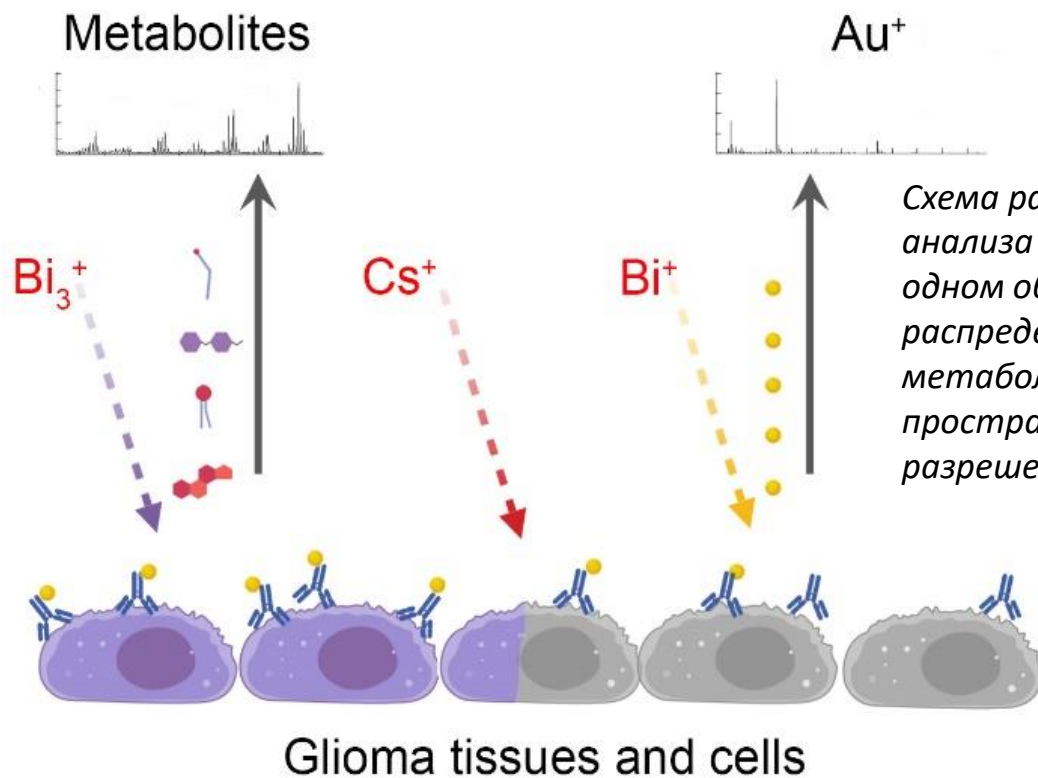


Схема разработанной методики анализа TOF-SIMS позволяющей в одном образце детектировать распределение белков и метаболитов с высоким пространственным разрешением.

Gularyan SK и др. (2020) Investigation of inter- and intra-tumoral heterogeneity of glioblastoma using TOF-SIMS. *Mol Cell Proteomics* (ИФ 4.870)

- ❑ Сотрудники лаборатории мембранных и биоэнергетических систем, совместно с коллегами химического факультета МГУ и ФНКЦ физико-химической медицины ФМБА первые применили метод TOF-SIMS (Time of flight secondary ion mass spectrometry) для исследования метаболомной гетерогенности глиом.
- ❑ Оптимизация данной методики позволила добиться пространственного разрешения около 500 нм.
- ❑ Кроме того, был разработан метод, позволяющий с помощью TOF-SIMS одновременно детектировать распределение белков и метаболитов в опухолевой ткани.
- ❑ Полученные данные продемонстрировали возможность TOF-SIMS разделить глиомы на клинически значимые группы и отличать нормальный мозг от опухолевой ткани.
- ❑ Кроме того, TOF-SIMS позволил отличить различные морфологические зоны глиобластомы друг от друга.
- ❑ В заключение, было показано, что в глиобластоме присутствует популяция клеток, одновременно содержащая высокий уровень белка Caveolin-1 и холестерина. Эти клетки могут представлять популяцию стволовых клеток глиобластомы.

ИНТЕГРАТИВНЫЙ АНАЛИЗ ДАННЫХ СЕКВЕНИРОВАНИЯ микроРНК И мРНК ПОЗВОЛЯЕТ ВЫЯВИТЬ ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ РЕГУЛЯТОРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ACE2 И TMPRSS2

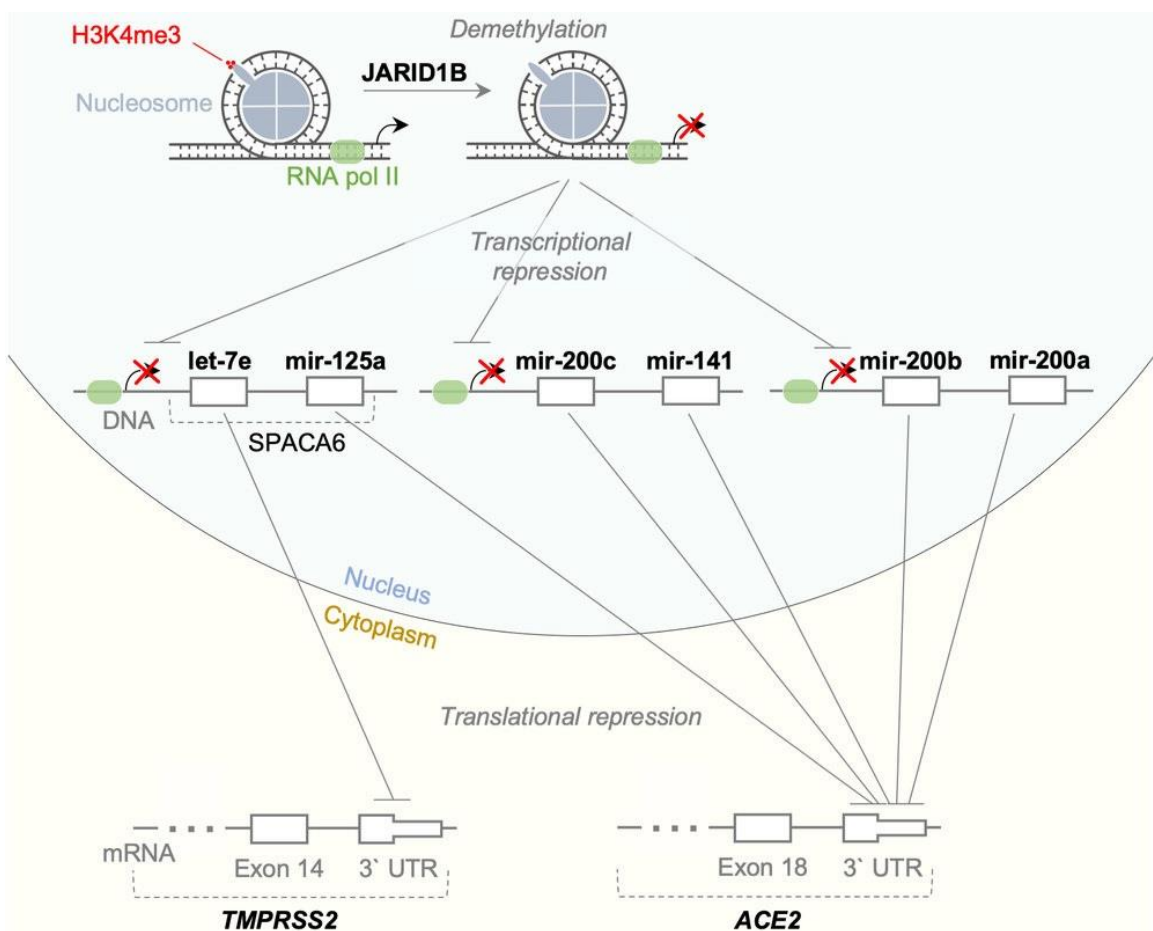


Схема сети взаимодействия, состоящей из JARID1B, семейств микроРНК *let-7e/miR-125a* и *miR-141/miR-200* и ферментов ACE2/TMPRSS2

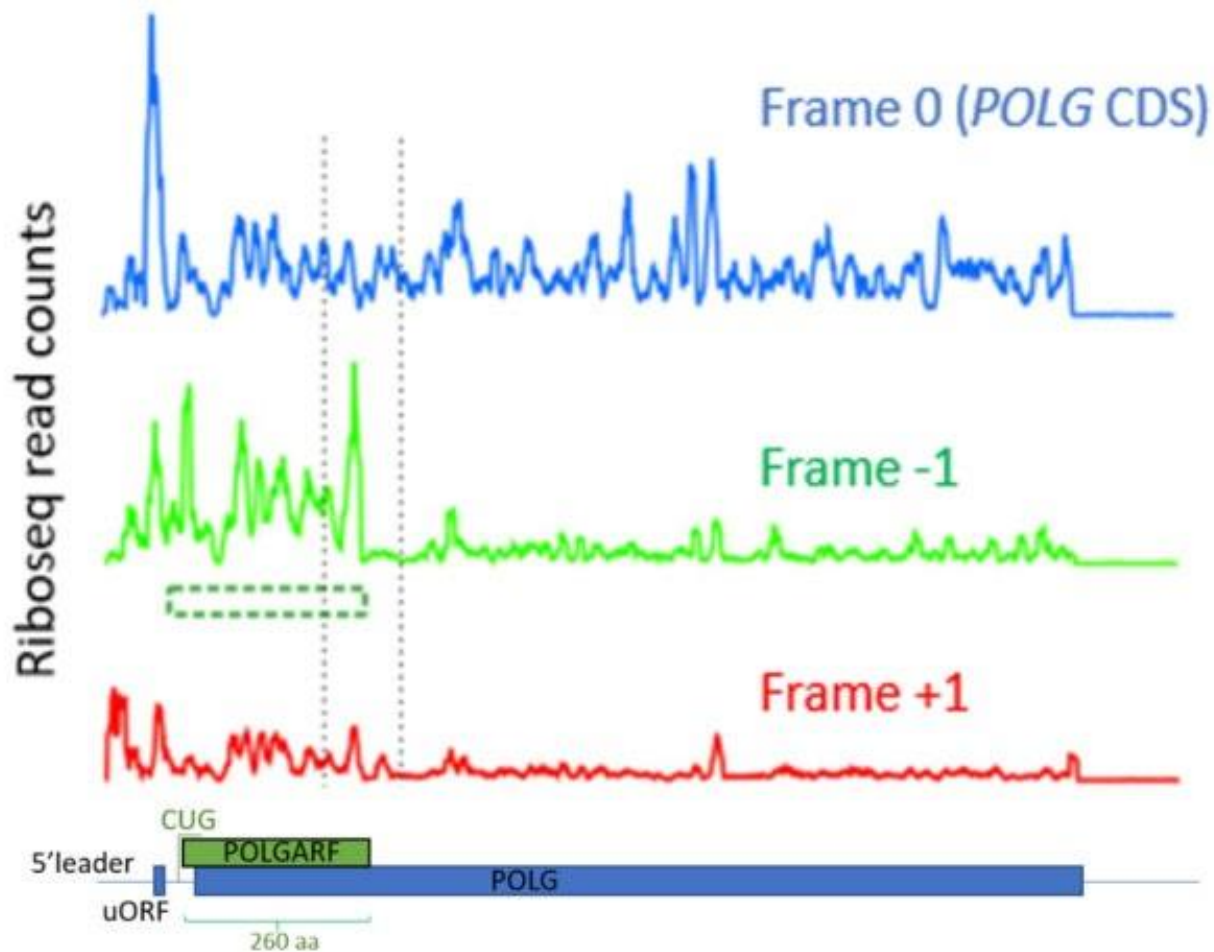
Разработка новых подходов к регулированию экспрессии ангиотензинпревращающего фермента 2 (ACE2) и трансмембранной сериновой протеазы 2 (TMPRSS2) становится все более важной в контексте продолжающейся пандемии COVID-19, поскольку эти ферменты играют решающую роль в клеточной инфекции.

Был проведен поиск предполагаемых сетей регуляции экспрессии ACE2 и TMPRSS2 с участием различных изоформ микроРНК (isomiR) в разных органах человека, используя общедоступные данные парного секвенирования микроРНК/мРНК из проекта The Cancer Genome Atlas (TCGA).

В результате были идентифицированы несколько семейств микроРНК, нацеленных на гены ACE2 и TMPRSS2 во многих тканях. В частности, мы обнаружили, что лизин-специфическая деметилаза 5B (JARID1B), кодируемая геном *KDM5B*, может косвенно влиять на экспрессию ACE2/TMPRSS2 путем репрессии транскрипции семейств микроРНК *hsa-let-7e/hsa-miR-125a* и *hsa-miR-141/hsa-miR-200*, которые нацелены на эти гены.

Nersisyan S и др. (2020) Integrative analysis of miRNA and mRNA sequencing data reveals potential regulatory mechanisms of ACE2 and TMPRSS2. *PLoS One* (ИФ 2.74)

ОТКРЫТ НОВЫЙ БЕЛОК, ЗАКОДИРОВАННЫЙ В ГЕНЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ПОЛИМЕРАЗЫ POLG



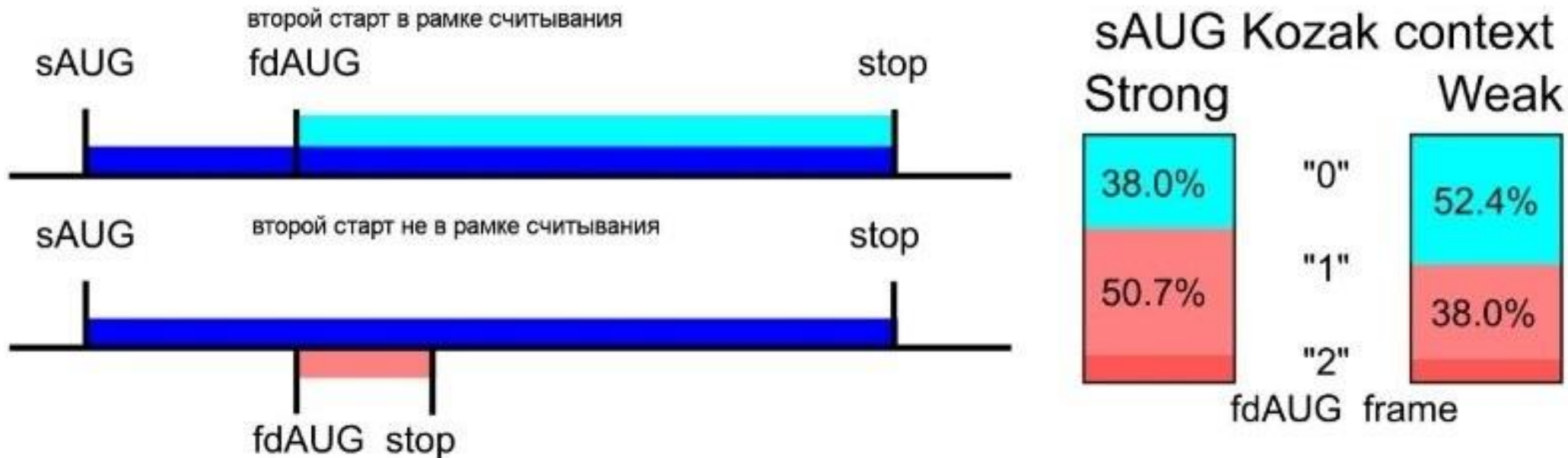
Mitochondrial DNA polymerase is essential for mitochondrial DNA replication. It consists of two subunits. POLG gene, which codes for catalytic subunit of polymerase, is notorious for more than 200 mutations linked to devastating inherited diseases. It is proposed that POLG mutations lead to progressive accumulation of mitochondrial DNA mutations and, subsequently, to organism dysfunction and death.

Andreev and colleagues discovered an efficient CUG start-codon in 5'-leader of POLG mRNA which initiates translation of a long alternative reading frame overlapping with POLG ORF. The new open reading frame is rather long (260 triplets in humans) and is conserved in placental mammals. The new protein was named POLGARF (POLG Alternative Reading Frame). POLGARF accumulates in nucleoli, but upon certain mitogenic stimuli is cleaved and secreted outside of cells.

It has been proposed that POLGARF evolved approximately 100-200 mln years ago by MIR transposon insertion into POLG gene, which allows alternative reading frame translation and evolution of POLGARF protein coding function.

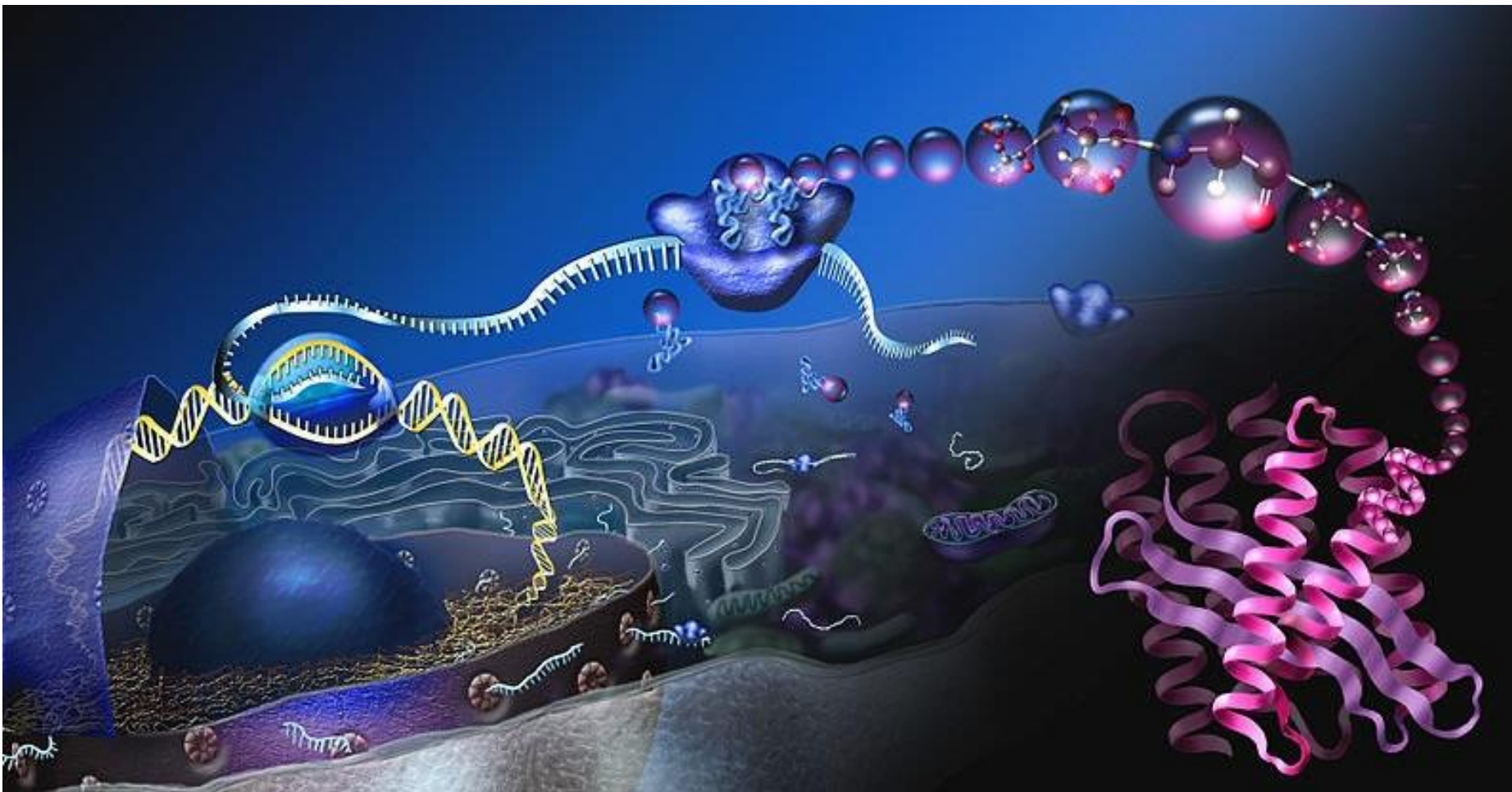
Loughran G и др. (2020) Unusually efficient CUG initiation of an overlapping reading frame in POLG mRNA yields novel protein POLGARF. *Proc Natl Acad Sci U S A* (ИФ 9.412)

КОНТЕКСТ СТАРТОВОГО КОДОНА ВЗАИМОСВЯЗАН С НАЛИЧИЕМ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ СТАРТОВ ТРАНСЛЯЦИИ В ОСНОВНОЙ РАМКЕ СЧИТЫВАНИЯ



Сотрудникам ИБХ РАН вместе с зарубежными коллегами удалось обнаружить ранее неизвестную эволюционную зависимость между эффективностью стартовых кодонов и встречаемостью AUG кодонов в 5'-концевой части белок-кодирующих последовательностей. В том случае, когда старт кодоны мало эффективны, вероятность встречаемости следующего AUG кодона выше в той же рамке считывания. В то время как для высоко-эффективных кодонов встречаемость следующего AUG кодона выше в альтернативных рамках. Им также удалось показать что слабая инициация на первом старт кодоне связана с синтезом укороченных протеоформ, обусловленных инициацией на втором старте.

Benitez-Cantos MS и др. (2020) Translation initiation downstream from annotated start codons in human mRNAs coevolves with the Kozak context. *Genome Res* (ИФ 11.093)

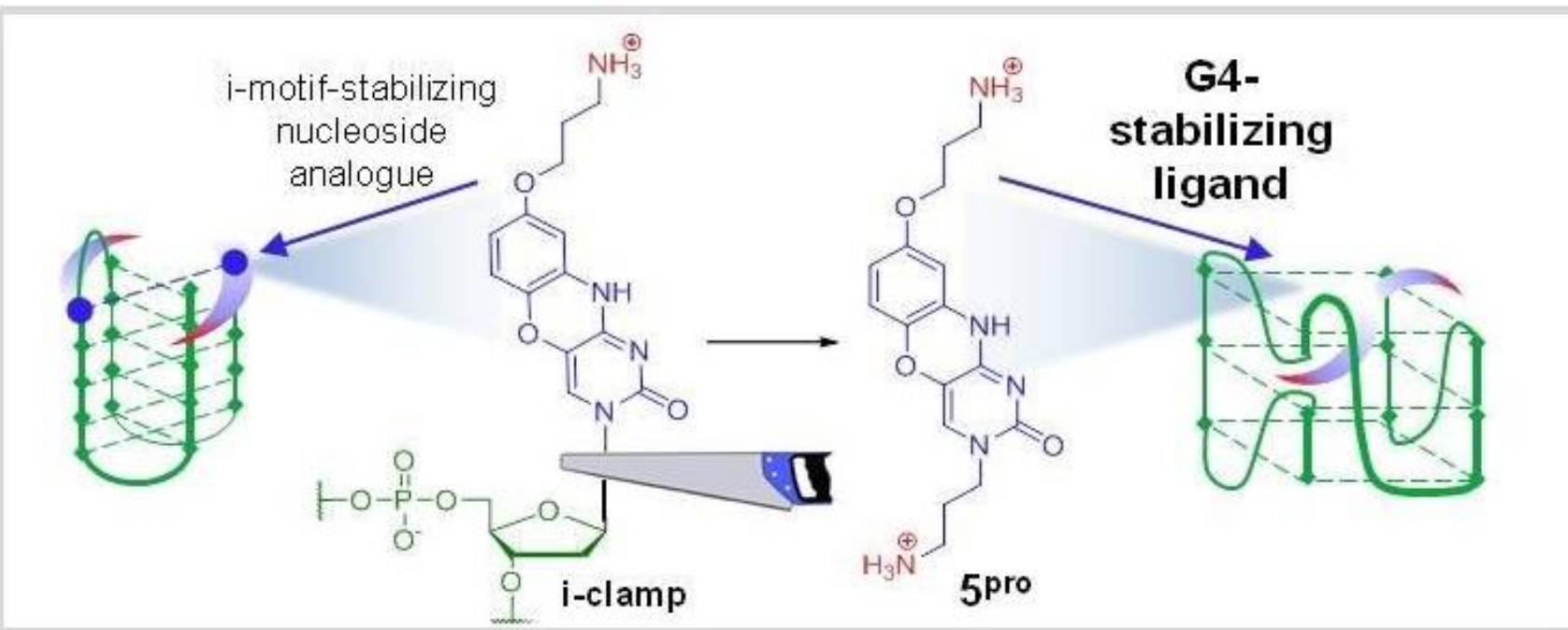


Лаборатория биоинформационных методов комбинаторной химии и биологии ИБХ РАН в сотрудничестве с коллегами из Ирландии опубликовала обзор в журнале WIREs RNA, в котором собрана информация о вычислительных методах, программном обеспечении и базах данных рибосомного профилирования, разработанных в течение последних десяти лет.

Kiniry SJ и др. (2019) Computational methods for ribosome profiling data analysis. *Wiley Interdiscip Rev RNA* (ИФ 6.913)

G-квадруплексы (G4) представляют собой один класс неканонических вторичных структур нуклеиновых кислот, которые в настоящее время рассматриваются как многообещающие и привлекательные мишени для противораковой, противовирусной и антибактериальной терапии.

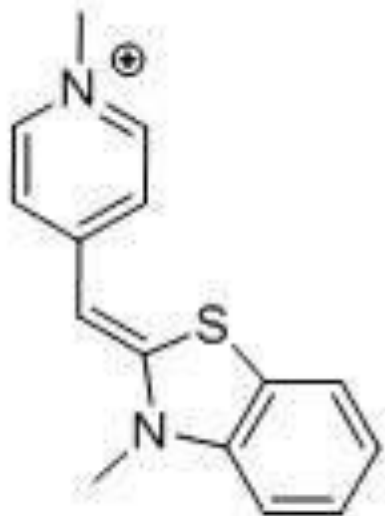
Мы исследовали новый феноксазиновый остов на основе i-Clamp для создания стабилизирующих G4 лигандов. Длина протонированных аминоалкильных линкеров («рукавов») лиганда на основе феноксазина была оптимизирована *in silico*. Были синтезированы два двухлинкерных лиганда, различающихся взаимной ориентацией линкеров, и один однолинкерный лиганд.



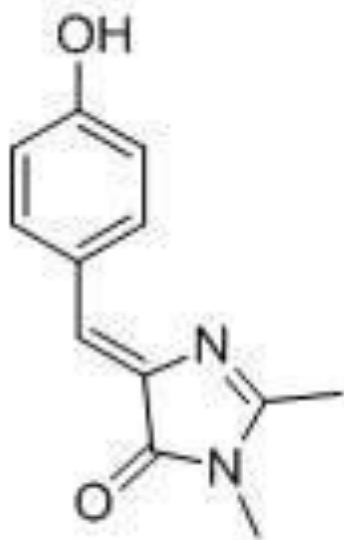
Двухлинкерные лиганды значительно увеличивали термическую стабильность G-квадруплексных структур (увеличивали температуру плавления до 20 °C) и проявляли селективность по отношению к G4 по сравнению с дуплексной ДНК.

Лиганды выглядят многообещающими для биологических исследований, и феноксазиновый остов может стать отправной точкой для разработки новых G4-взаимодействующих соединений.

Tsvetkov VB и др. (2020) Phenoxazine-based scaffold for designing G4-interacting agents. *Org Biomol Chem* (ИФ 3.412)



BO



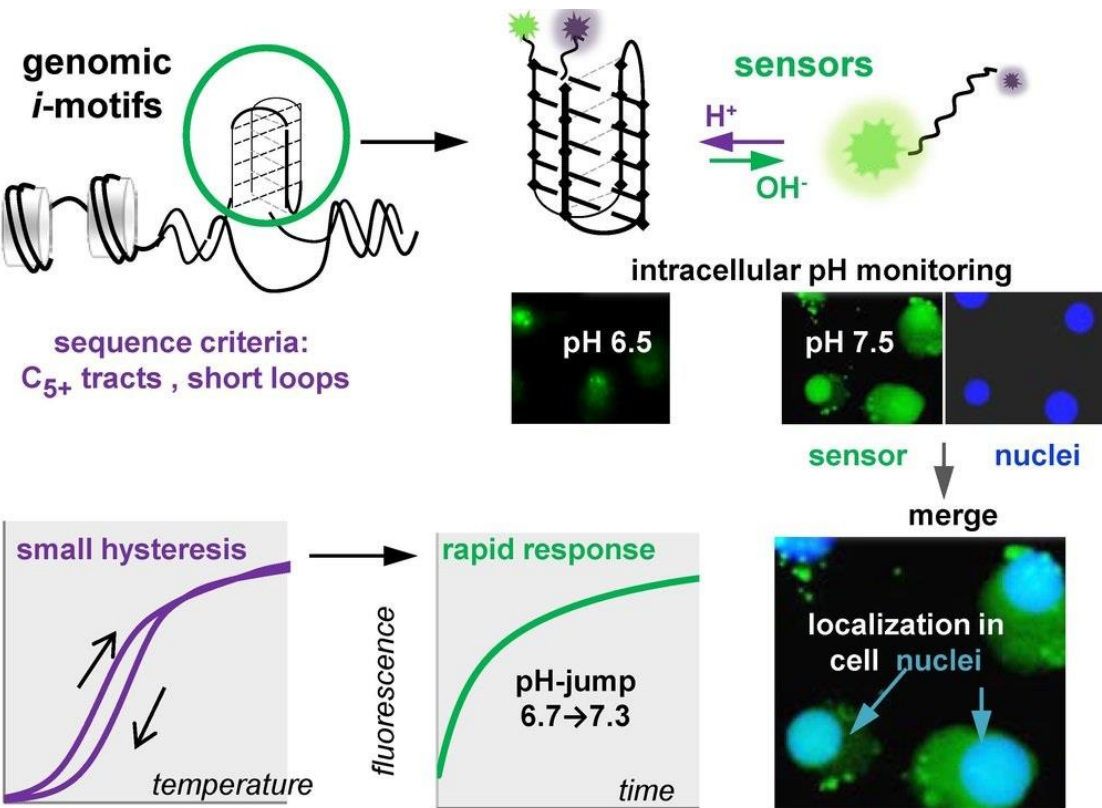
GFP chromophore

Аптасенсоры стали популярными инструментами в биоаналитической химии и молекулярной биологии. Для повышения специфичности перспективные сигнальные элементы в аптасенсорах можно разделить на G-квадруплексную (G4) часть и свободный флуоресцентный краситель, который разгорается при связывании с G4 частью. Однако существующие системы ограничены относительно низким усилением флуоресценции при связывании красителя.

- ❑ Мы присоединили дуплексные модули к G4 структурам, что предположительно вызывает образование связывающей краситель полости между двумя модулями.
- ❑ Скрининг множества синтетических аналогов хромофора GFP и вариация дуплексного модуля позволили отобрать красители, которые разгораются после образования комплекса с двухмодульными структурами и их РНК-аналогами до 20 раз по сравнению с G4 без дуплексного модуля.
- ❑ Мы продемонстрировали усиление флуоресценции красителя после связывания с модифицированными структурами TBA, LTR-III и Tel23a G4 и предполагаем, что такая архитектура коротких сигнальных элементов дуплекс-G4 будет способствовать разработке улучшенных аптасенсоров.

Zaitseva SO и др. (2020) Short Duplex Module Coupled to G-Quadruplexes Increases Fluorescence of Synthetic GFP Chromophore Analogues. *Sensors (Basel)* (ИФ 3.275)

ГЕНОМНЫЕ ДНК I-МОТИВЫ В КАЧЕСТВЕ БЫСТРЫХ СЕНСОРОВ, РЕАГИРУЮЩИХ НА МИКРОИЗМЕНЕНИЯ pH ВБЛИЗИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ РЕЛЕВАНТНЫХ ЗНАЧЕНИЙ



Turaev AV и др. (2020) Genomic DNA i-motifs as fast sensors responsive to near-physiological pH microchanges. *Biosens Bioelectron* (ИФ 10.257)

Мы разработали простые и надежные сенсоры для измерения внутриклеточного pH на основе ДНК i-мотивов (iMs), обнаруженных в генах, связанных с нейродегенерацией или канцерогенезом. Данные iM, по-видимому, являются геномными регуляторными элементами и могут модулировать транскрипцию в ответ на изменения pH. Учитывая присущую им чувствительность к незначительным изменениям pH в пределах физиологического диапазона, данные неканонические структуры ДНК можно использовать в качестве основного элемента сенсора без дополнительных модулей, за исключением флуоресцентных меток или тушителей.

- ❑ Мы отобрали несколько iM, которые демонстрировали быструю кинетику фолдинга/расплетения. Используя метод остановленного потока и метод FRET-плавления/отжига, мы подтвердили, что скорость зависимых от температуры переходов iM-оцДНК коррелируют со скоростью pH переходов.
- ❑ Таким образом, мы предлагаем анализ гистерезиса на основе FRET в качестве экспресс-метода выбора сенсоров с заданными кинетическими характеристиками. Для лидерного быстродействующего сенсора мы оптимизировали схему мечения и провели внутриклеточную калибровку. В отличие от обычно используемых низкомолекулярных индикаторов pH, данный сенсор эффективно транспортировался на ядра клеток. Благодаря подходящим кинетическим характеристикам сенсор можно использовать для мониторинга динамики протонов в ядре.
- ❑ Наши результаты свидетельствуют о том, что дизайн с применением геномных последовательностей является продуктивным подходом к разработке биосовместимых молекулярных инструментов.





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

ИФ 76,7

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

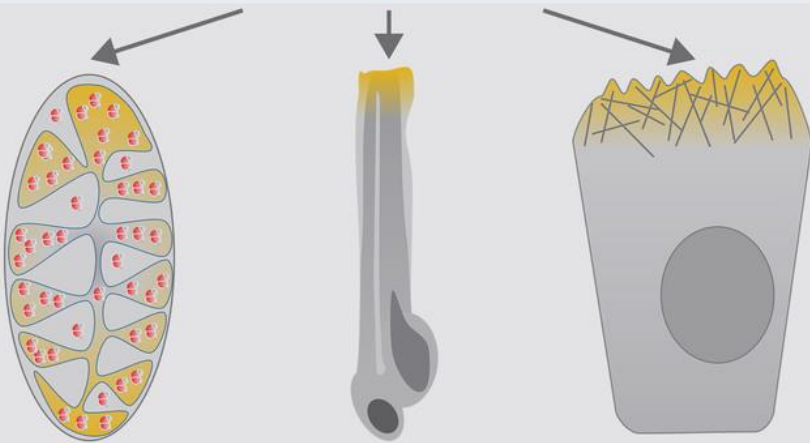
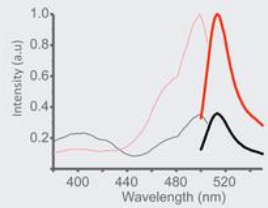
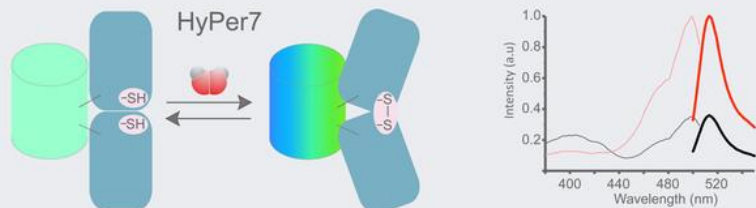
ИФ 22

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

ИФ 46

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

РАЗРАБОТАН УНИКАЛЬНЫЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ ЗОНД ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ СВЕРХНИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА В КЛЕТКАХ



Pak VV и др. (2020) Ultrasensitive Genetically Encoded Indicator for Hydrogen Peroxide Identifies Roles for the Oxidant in Cell Migration and Mitochondrial Function. *Cell Metabolism* (ИФ 21.567)

Пероксид водорода (H_2O_2) – одна из важнейших биологически активных молекул. В физиологических концентрациях H_2O_2 выполняет внутриклеточные и внеклеточные сигнальные функции, осуществляет редокс регуляцию ключевых биохимических процессов. Аномально высокий уровень H_2O_2 приводит к окислительному стрессу. Чрезвычайно низкие наномолярные концентрации, высокая реакционность и короткое время жизни сильно затрудняет изучение точных механизмов продукции и распределения H_2O_2 в клетках и тканях, физиологической роли этой молекулы, ее участие в патологических процессах.

Разработан уникальный флуоресцентный зонд для детекции сверхнизких концентраций H_2O_2 в клетках. Зонд HyPer7 представляет собой комплекс из зеленого флуоресцентного белка, интегрированного в белок OxyR бактерии *Neisseria meningitidis*, чувствительный к окислению пероксидом водорода, но не другими активными формами кислорода. Для того чтобы его разработать, ученые исследовали множество белков OxyR у различных бактерий, варьировали схему интеграции OxyR и флуоресцентного белка, использовали направленный и случайный мутагенез. В результате удалось получить уникальный инструмент визуализации, работающий при сверхнизких концентрациях H_2O_2 , с высокой яркостью и коротким временем отклика, независимый от физиологических изменений pH.

С помощью разработанного сенсора авторам работы уже удалось изучить детали диффузии H_2O_2 между митохондриями и цитозолем, исследовать роль градиентов пероксида водорода в поляризации клеток, и при повреждении тканей.

Уникальная разработка позволит визуализировать H_2O_2 в различных биологических контекстах и исследовать роль этой молекулы в нормальных биохимических процессах, а также в широком круге патологий, в которых окислительный стресс играет ключевую роль: ишемических, нейродегенеративных, воспалительных и онкологических заболеваниях.





ОТДЕЛ БИОТЕХНОЛОГИИ (рук. академик А.И. Мирошников)

ИФ 5,7

- **Лаборатория биофармацевтических технологий**
Р.С. Есипов

ИФ 9,9

- **Лаборатория биосинтеза низкомолекулярных физиологически активных соединений** И.Д. Константинова

ИФ 0

- **Лаборатория биотехнологии гликопротеинов**
И.И. Воробьев

ИФ 9,1

- **Группа химии пептидов**
В.Н. Азев

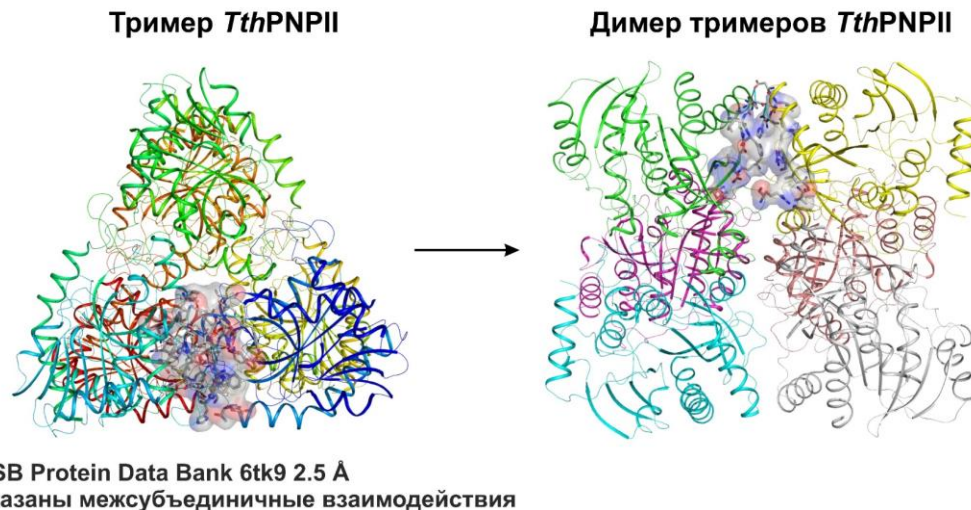
ИФ 13,4

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

Субстратная специфичность

Фермент	Субстрат	Активность, $\mu\text{моль/мин}\cdot\text{мг}$
TthPNPI	Инозин	330 ± 40
	6-меркаптопуридин рибозид	3.7 ± 0.5
	Гипоксантин арабинозид	0.027 ± 0.003
	Аденозин	0.012 ± 0.002
TthPNPII	Аденозин	830 ± 120
	2-хлораденозин	29 ± 3
	Аденин арабинозид	0.11 ± 0.02
	Инозин	0.35 ± 0.06

Структура TthPNPII

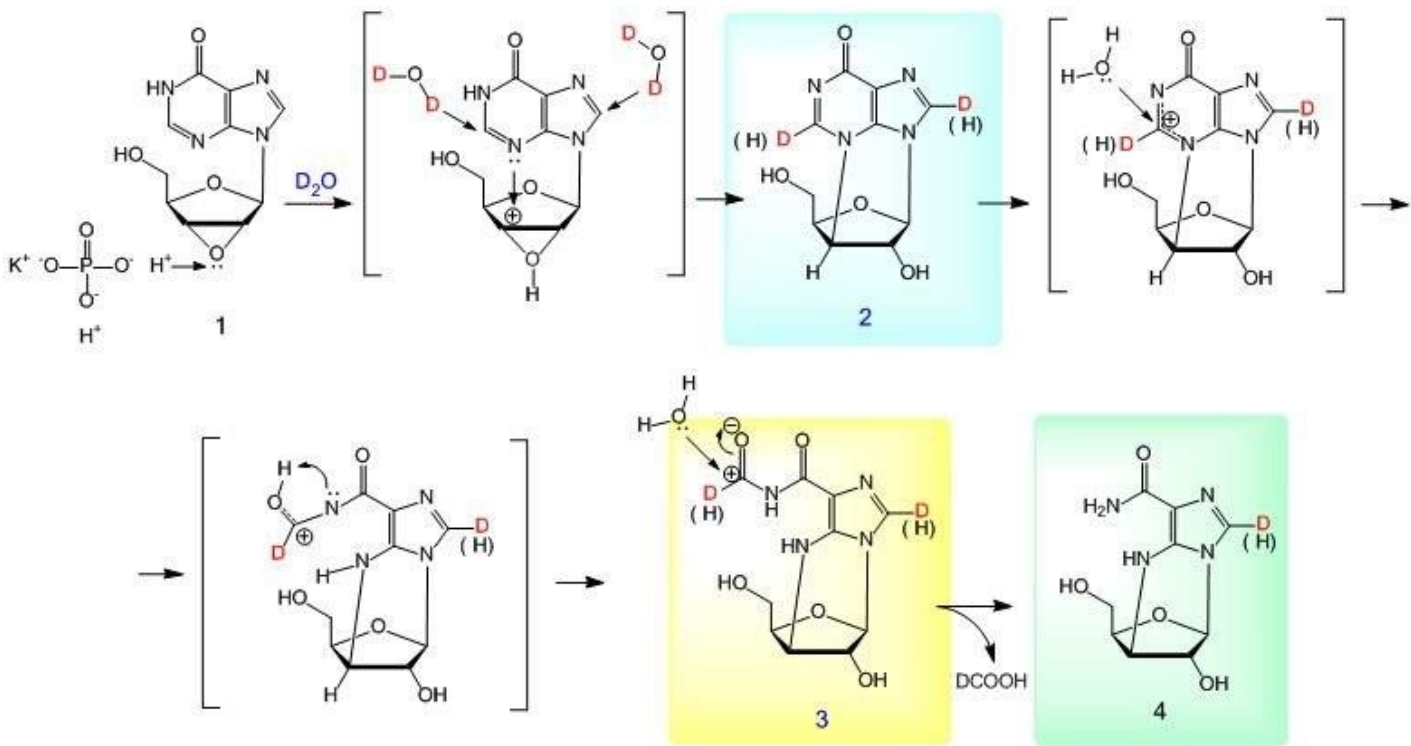


Получены две рекомбинантные пуридинуклеозидфосфорилазы из термофильной бактерии *Thermus thermophilus* HB27. Проведено сравнительное исследование их ферментативной активности и 3D структур.

- ❑ Для ферментов показана разная специфичность: у TthPNPI к гуанозину, а у TthPNPII к аденозину.
- ❑ Получена структура апоформы TthPNPII с разрешением 2.5 Å и депонирована в базу данных RCSB Protein Data Bank под идентификатором 6tk9.
- ❑ Сравнение активных центров TthPNPII и PNP из *Thermus thermophilus* HB8, являющейся полным гомологом TthPNPI, показало принципиальную разницу в участки, ответственном за распознавание пуринового основания: остатки Asn204 и Glu156 в TthHB8PNP и Asp235 и Ala193 в TthPNPII. Для TthPNPII, обладающей высокой гомологией с тримерными PNP, показана уникальная гексамерная организация (димер тримеров).
- ❑ Результаты аналитической гель-фильтрационной хроматографии и SAXS исследования подтвердили данные рентгеноструктурного анализа.

Timofeev VI и др. (2020) The comparative analysis of the properties and structures of purine nucleoside phosphorylases from thermophilic bacterium *Thermus thermophilus* HB27. *J Biomol Struct Dyn* (ИФ 0)

РАДИКАЛЬНОЕ ДЕГАЛОИДИРОВАНИЕ И ПУРИННУКЛЕОЗИДФОСФОРИЛАЗА *E. COLI*: КАК ПРИМЕСЬ 2',3'-АНГИДРОИНОЗИНА ИНГИБИРОВАЛА СИНТЕЗ 2-ФТОРКОРДИЦЕПИНА



Во время ферментативного синтеза 2-фторкордицепина из 2-фтораденозина мы обратили внимание на замедление реакции и заметное снижение выхода целевого продукта до 5%.

Неизвестный нуклеозид, в последствие идентифицированный как соединение (4,2) был обнаружен в реакционной смеси. Этот нуклеозид образовывался из примеси 2',3'-ангидроинозина (1) в исходном 3'-дезоксиинозине. 2',3'-Ангидроинозин - побочный продукт, который образовывался во время реакции радикального дегалоидирования 9-(2',5'-ди-О-ацетил-3'-бром-3'-дезоксидеоксирибозил)гипоксантина (предшественника 3'-дезоксиинозина в химическом синтезе). Как могла примесь 2',3'-ангидроинозина или продукты ее деградации в буферном растворе влиять на работу пуригнуклеозидфосфорилазы *E. coli* в синтезе 2-фторкордицепина? Мы досконально изучили процесс деградации 2',3'-ангидроинозина (1). Заменой H₂O на D₂O мы замедлили химические процессы. Нам удалось идентифицировать полупродукты деградации эпоксиинозина - (2) и (3), выделить их из реакционной смеси и установить их структуру с помощью масс- и ЯМР-спектроскопии.

Механизм деградации 2',3'-ангидроинозина в D₂O и структура нуклеозидов(2) и (3) описаны впервые

Manuscript ID: Biomolecules-976139 Title: "Radical dehalogenation and purine nucleoside phosphorylase *E. coli*: how does an admixture of 2',3'-anhydroinosine hinder 2-fluorocordycepin synthesis". Submitted 8 October 2020 to section: "Enzymology", *Special Issue «Biotechnological and Biomedical Applications of Enzymes Involved in the Synthesis of Nucleosides and Nucleotides»*

Лаборатория биосинтеза низкомолекулярных физиологически активных соединений (Константинова И.Д.)

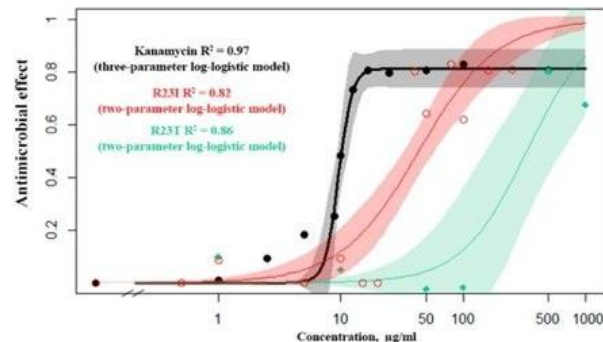
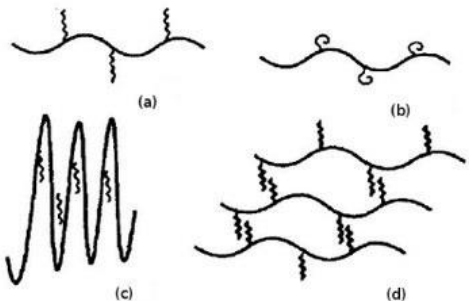
Лаборатория структурной биологии ионных каналов (Шенкарёв З.О.). Лаборатория биофармацевтических технологий (Есипов Р.С.)

Интернализирующая последовательность
 1) Переносчик молекул через мембраны
 2) Способствуют солюбилизации конъюгата



Преодоление агрегации пептидил-полимера в ходе синтеза

Амилоидогенные фрагменты рибосомального белка S1 *Thermus Thermophilus*

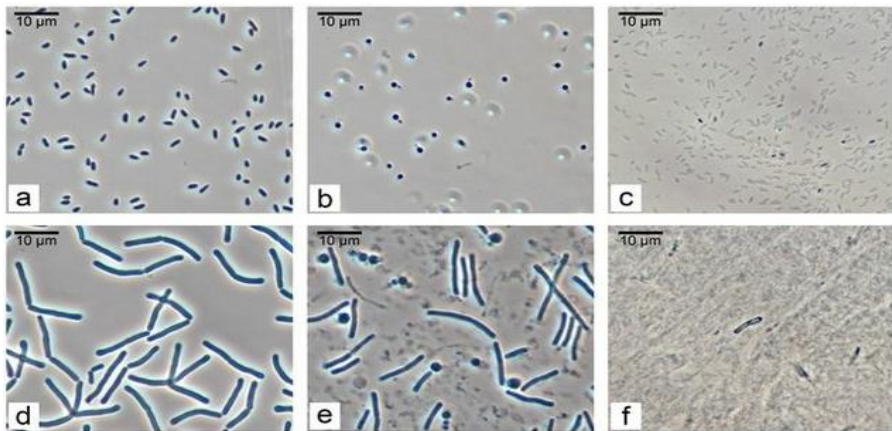


Kurpe SR и др. (2020) Antimicrobial and amyloidogenic activity of peptides synthesized on the basis of the ribosomal S1 protein from *Thermus thermophilus*. *Int J Mol Sci* (ИФ 4.556) В.Н

С целью создания нового класса соединений пептидной природы с антибактериальными свойствами предложен химический синтез конъюгатов состоящих из двух функционально-активных пептидов. Один пептид является амилоидогенным фрагментом цитозольного белка бактерии и его функция заключается в индукции агрегации «родительского» цитозольного белка. Второй пептид имеет свойство транслоцироваться через биологические мембраны, кроме того он служит переносчиком различных молекул через них. Таким образом, возможный биологический эффект конъюгата на молекулярном уровне заключался бы в индукции агрегации цитозольного белка внутри бактерии и нарушению его функционирования с фатальным эффектом для микроорганизма.

Описанный подход экспериментально проверен в ходе изучения биологической активности конъюгатов, состоящих из амилоидогенных пептидов, являющихся фрагментами белка S1 бактерии *Thermus thermophilus* и интернализирующего пептида RKKRRQRRR являющегося фрагментом белка Tat (Tat49-57). Один из конъюгатов обладал антибактериальной активностью сравнимой с антибиотиком канамицином по величине MIC.

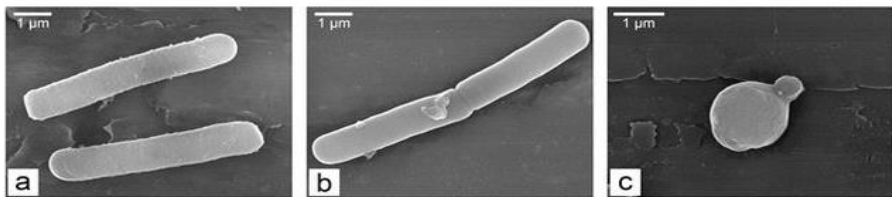
Предварительные данные по изучению механизма действия конъюгата свидетельствуют о том, что его взаимодействие с бактерией более сложное, чем предполагает исходная гипотеза, но эти данные не исключают наличия цитозольной мишени.



Исследовано антибактериальное действие трёх фагоспецифических пептидаз на бактерии с различной структурой пептидогликана. Показано, что эндолизин миовирусов RB43 и RB49 эффективно лизируют целый ряд бактерий, не являющихся хозяевами для этих фагов. Промежуточной стадией лизиса является образование сферопластов и протопластов.

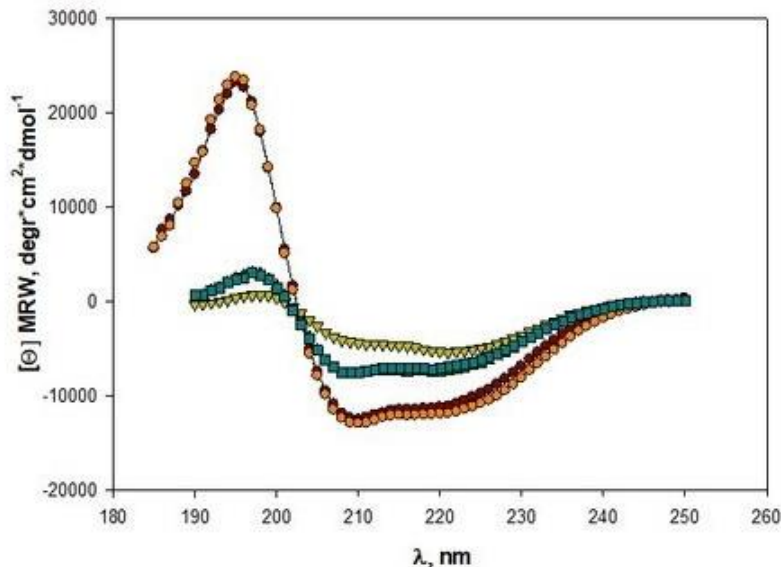
Полученные данные расширяют возможности применения этих ферментов как в биомедицине, так и для нужд биотехнологии.

Стадии разрушения клеток *Pseudomonas aeruginosa* эндолизином фага RB43 (a-c);
Bacillus megaterium – эндолизином фага RB49 (d-f):
a,d – 0 минут, b,e – 5 минут, c,f – 15 минут

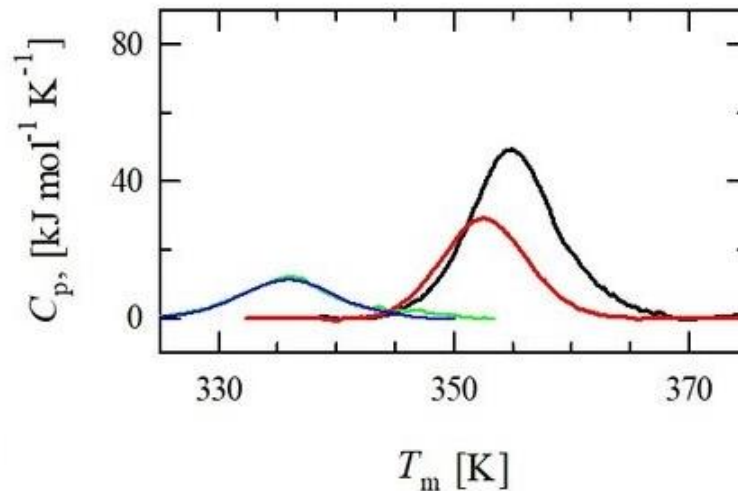


Образование протопластов *Bacillus megaterium* под действием эндолизина бактериофага RB49:
a – интактные клетки, b – клетки, лишенные пептидогликана, c – протопласт

Shadrin VS и др. (2020) Lysis of cells of diverse bacteria by l,d-peptidases of *Escherichia coli* bacteriophages RB43, RB49 and T5. *J Appl Microbiol* (ИФ 3.066)



Спектры кругового дихроизма EndoT5 в дальнем ультрафиолете. Кружками обозначены: цинковая и цинк-кальциевая формы; треугольниками – кальциевая; квадратами – апоформа



Молярная теплоёмкость как функция температуры для различных форм EndoT5: синяя – апоформа, зелёная – EndoT5-Ca, красная – EndoT5-Zn, чёрная – EndoT5-Zn-Ca.

Изучено влияние последовательного связывания каталитического иона цинка и регуляторного иона кальция на структуру, термодинамические свойства и ферментативную активность металлофермента – эндолизина бактериофага T5.

Показано, что белковая глобула, присоединяя ион цинка, претерпевает сильные перестройки в структуре, довершаемые присоединением иона кальция, что приводит к образованию активной формы фермента. Точечный мутагенез в сайте связывания Ca^{2+} влечет потерю функционально важной структурной компактизации.

Полученные данные проясняют механизм ионной активации кальций-связывающих пептидогликангидролаз.

Kutyshenko VP и др. (2020) On the roles of calcium and zinc ions in the formation of a catalytically active form of the metalloenzyme, L-alanyl-D-glutamate peptidase of the bacteriophage T5 (EndoT5). *Int J Biol Macromol* (ИФ 5.162)





ОТДЕЛ БИОФОТОНИКИ (рук. член-корр. РАН К.А. Лукьянов)

ИФ 35,6

- **Лаборатория генетически кодируемых молекулярных инструментов**
К.А. Лукьянов

ИФ 15,4

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

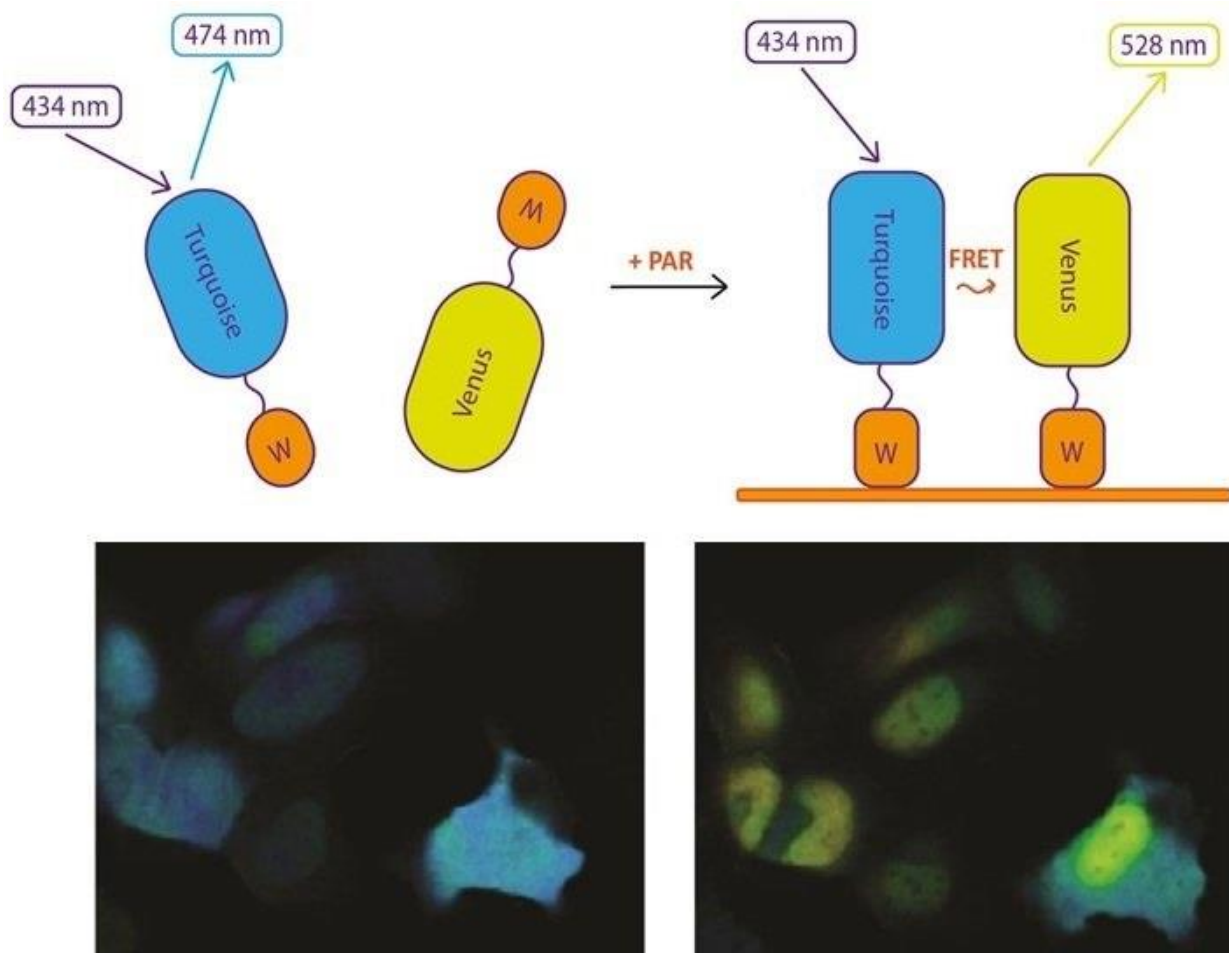
ИФ 72,6

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

ИФ 44,9

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

ГЕНЕТИЧЕСКИ КОДИРУЕМЫЙ СЕНСОР ПОЛИ-АДФ-РИБОЗЫ

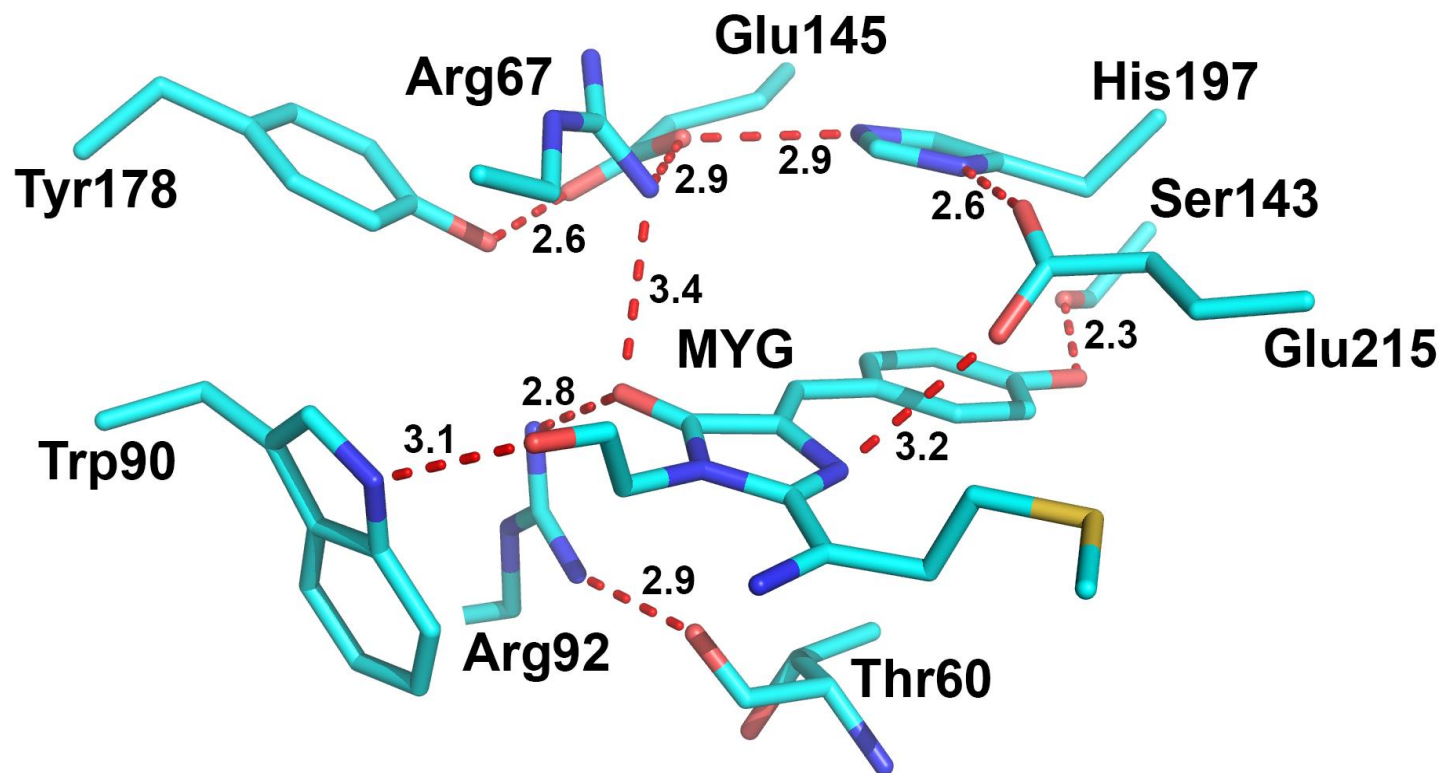


Поли-АДФ-рибозилирование - это обратимая посттрансляционная модификация белков и ДНК, которая играет важную роль в различных клеточных процессах, таких как реакция на повреждение ДНК, репликация, транскрипция и гибель клеток. В настоящей работе мы разработали первый полностью генетически кодируемый флуоресцентный сенсор поли-АДФ-рибозы (ПАР) на основе Фёрстеровского резонансного переноса энергии (FRET).

Домен WWE убиквитинлигазы RNF146 E3, который распознает внутреннюю ПАР-специфическую структурную единицу изо-АДФ-рибозы, был использован в качестве модуля нацеливания на ПАР. Сенсор состоял из флуоресцентных белков Turquoise2 и Venus, каждый из которых был слит с доменом WWE. Этот двухчастный сенсор, названный sPARroW (sensor for PAR relying on WWE), позволял контролировать накопление и распад ПАР в живых клетках млекопитающих в ответ на различные стимулы, а именно на обработку перекисью водорода, УФ-облучение и гипертермию.

Универсальность возможных способов детекции сигнала сенсора (транслокация сигнала, либо ратиометрическая детекция FRET, либо визуализации FRET на основе детекции времени жизни флуоресценции) делает sPARroW легко применимым в различных биологических моделях и микроскопах.

Serebrovskaya EO и др. (2020) Genetically Encoded Fluorescent Sensor for Poly-ADP-Ribose. *Int J Mol Sci* (ИФ 4.556)

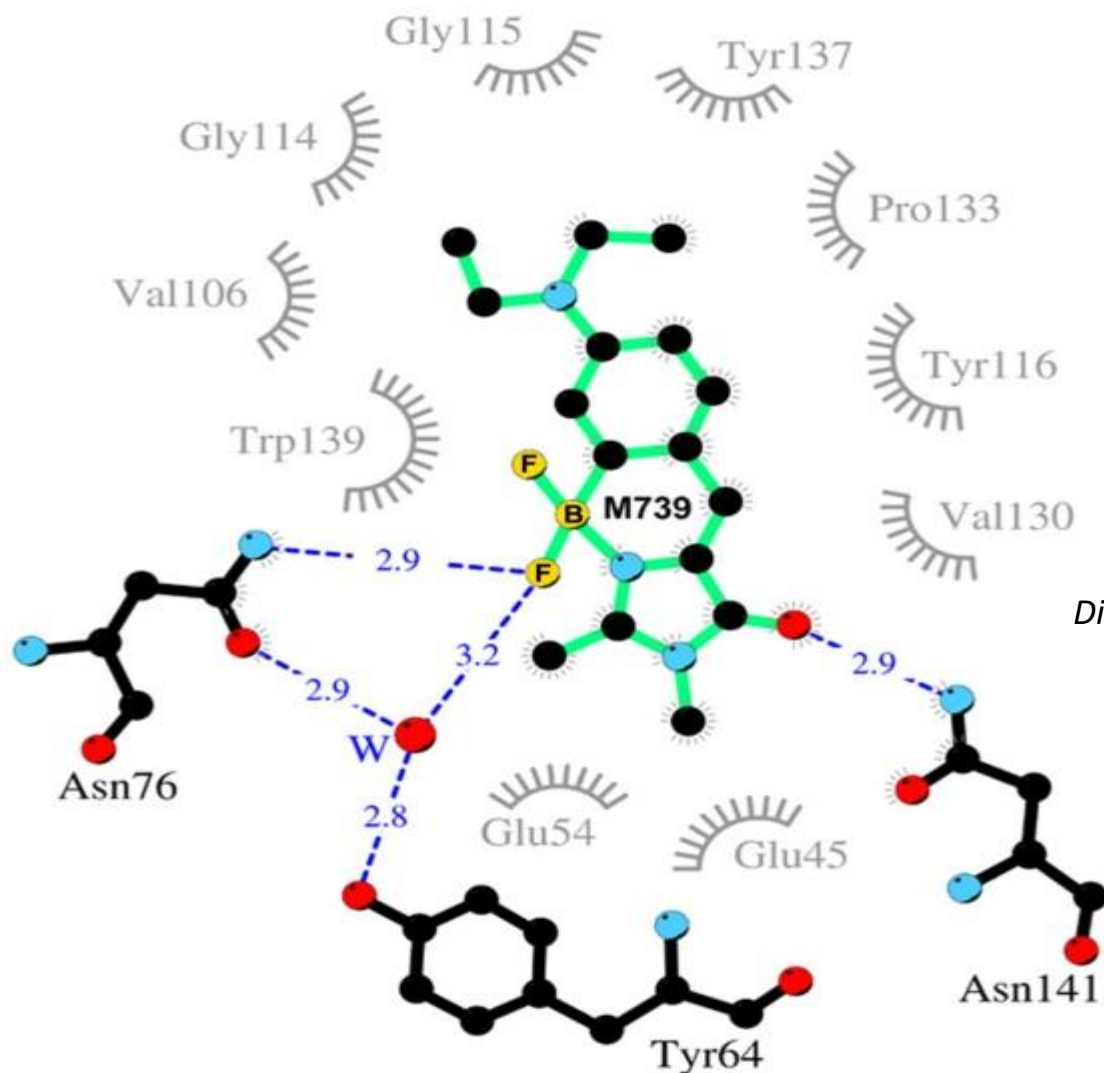


Ближайшее окружение хромофора FusionRed.

Методом рентгеноструктурного анализа в определена структура яркого мономерного красного флуоресцентного биомаркера FusionRed при сверхвысоком разрешении 1.09Å.

- ❑ Установлено наличие двух альтернативных путей пост-трансляционной модификации белка с образованием зрелого хромофора (~60%) и интактной хромофоробразующей триады (~40%).
- ❑ Структурно обоснованная замена остатка Cys158 (стабилизирующего незрелую форму за счет H-связи) на объемный гидрофобный остаток Leu привела к 100% созреванию хромофора.

Muslinkina L и др. (2020) "Two independent routes of post-translational chemistry in fluorescent protein FusionRed." *Int J Biol Macromol* (ИФ 5.162)

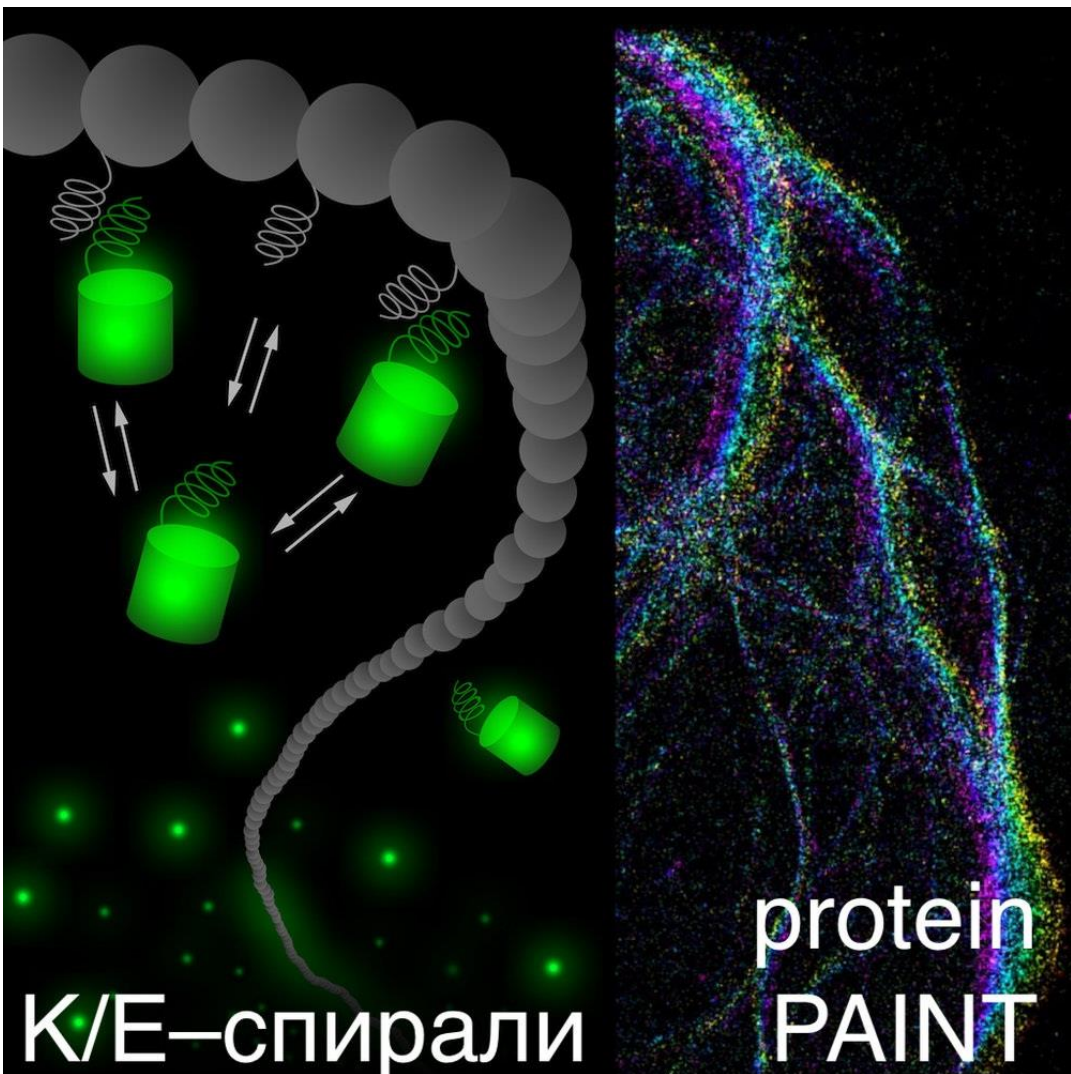


Методом рентгеноструктурного анализа с высоким разрешением 1.58Å установлена структура фотостабильного нековалентного комплекса бактериального липокалина B1c с синтетическим хромофором M739 (DiB1:M739).

- Установлены стереохимические детали связывания M739 и на основе полученных структурных данных осуществлен дизайн двух новых генно-инженерных биомаркеров (зеленого и желтого) с повышенной аффинностью и яркостью.

DiB1- синтетический хромофор M739 в полости бактериального липокалина B1c

Muslinkina L и др. (2020) "Structure-Based Rational Design of Two Enhanced Bacterial Lipocalin *B1c* Tags for Protein-PAINT Super-resolution Microscopy." *ACS Chemical Biology* (ИФ 4.434)



- ❑ Гетеродимеризацию К/Е-спиралей впервые применили для флуоресцентного мечения белков в живых клетках.
- ❑ Одна из специально подобранных α -спиралей (К или Е) служит меткой для целевого белка, а другую помещают на генетически кодируемый флуоресцентный белок. За счет обратимого взаимодействия К и Е-спиралей целевая белковая структура окрашивается, а непрерывный обмен флуоресцентных белков в составе комплекса на порядок увеличивает устойчивость к фотообесцвечиванию.
- ❑ Небольшой размер меток (всего 2-3 кДа) позволяет сохранить нативную динамику исследуемых белков. Вдобавок, такой метод дает возможность наблюдать белки практически сразу после их синтеза.
- ❑ Наиболее интересным оказалось применение К/Е-спиралей для Protein-PAINT – локализационной микроскопии сверхвысокого разрешения, основанной на обратимом взаимодействующих метках. Непрерывный обмен флуоресцентных белков между целевой клеточной структурой и цитоплазматическим пулом обеспечивает стабильно высокую плотность мечения даже при продолжительной съемке. С помощью К/Е-спиралей впервые удалось воплотить концепцию наноскопии Protein-PAINT с использованием только генетически кодируемых репортеров.

Perfilov MM и др. (2020) Highly photostable fluorescent labeling of proteins in live cells using exchangeable coiled coils heterodimerization. *Cell Mol Life Sci* (ИФ 6.496)





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

ИФ 51,8

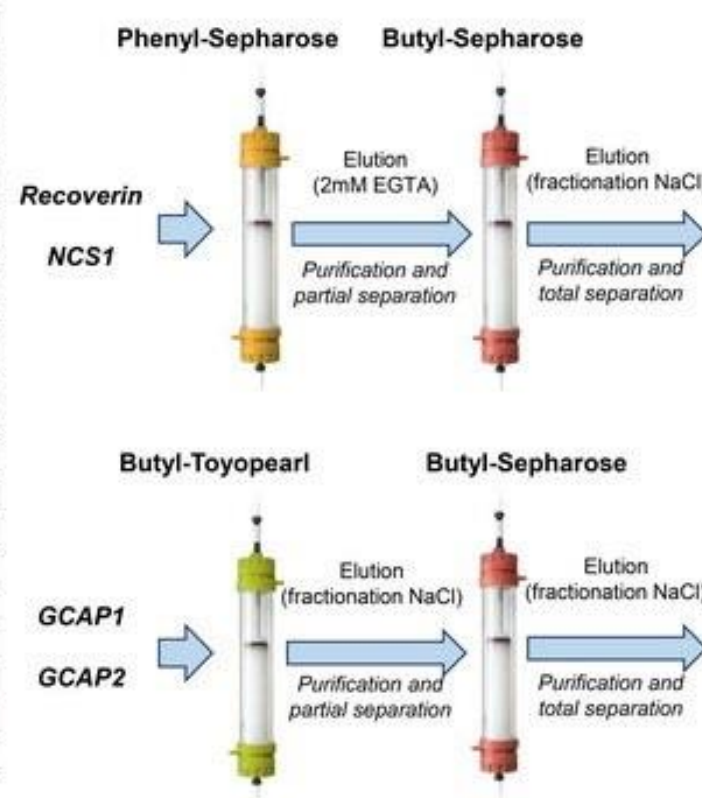
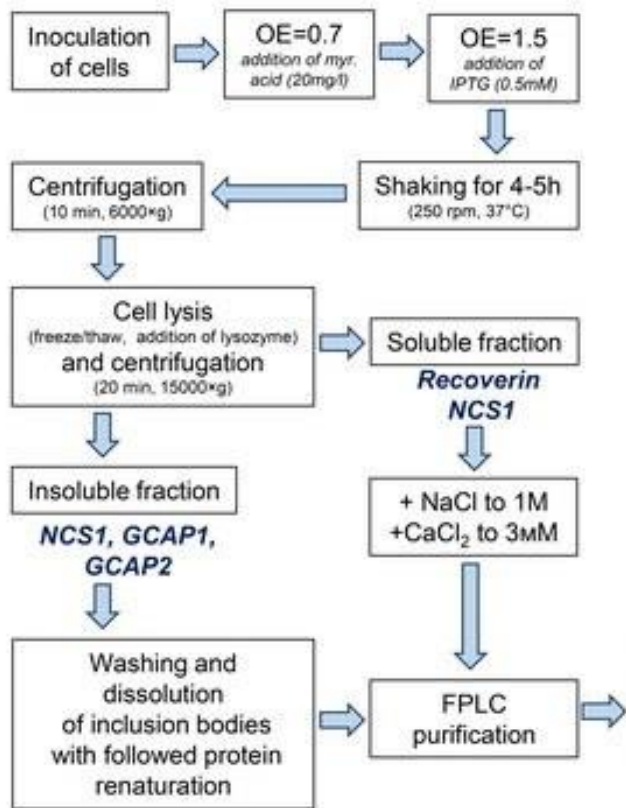
- **Лаборатория биологических испытаний**
И.А. Дьяченко

ИФ 4,2

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

ИФ 12,9

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



Молекулярные механизмы функционирования белков семейства нейрональных кальциевых сенсоров (НКС) представляют большой интерес, так как они участвуют в прогрессировании офтальмологических и нейродегенеративных заболеваний, а также развитию рака. Используемые в настоящий момент подходы для получения соответствующих нативным миристоилированных форм рекомбинантных НКС посредством их бактериальной коэкспрессии с N-миристоил-трансферазой из *Saccharomyces cerevisiae* часто дают смесь миристоилированных и немиристоилированных форм. Мы предлагаем новую методику получения НКС (рековерин, GCAP1, GCAP2, нейрокальцин δ и NCS-1), обеспечивающую их почти полное N-миристоилирование.

- Предложенная методика включает в себя оптимизирование бактериальной экспрессии и схему разделения миристоилированных и немиристоилированных форм НКС с использованием нескольких типов гидрофобной хроматографии. Кроме этого, нами было показано, что после ренатурации NCS-1 сохраняет свою Ca^{2+} -связывающую способность и стабильность третичной структуры.
- Разработанный подход может быть использован для получения миристоилированных форм различных других белков.

Vladimirov VI и др. (2020) A Novel Approach to Bacterial Expression and Purification of Myristoylated Forms of Neuronal Calcium Sensor Proteins. *Biomolecules* (ИФ 4.082)



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





ДРУГИЕ ПОДРАЗДЕЛЕНИЯ

ИФ 39,9

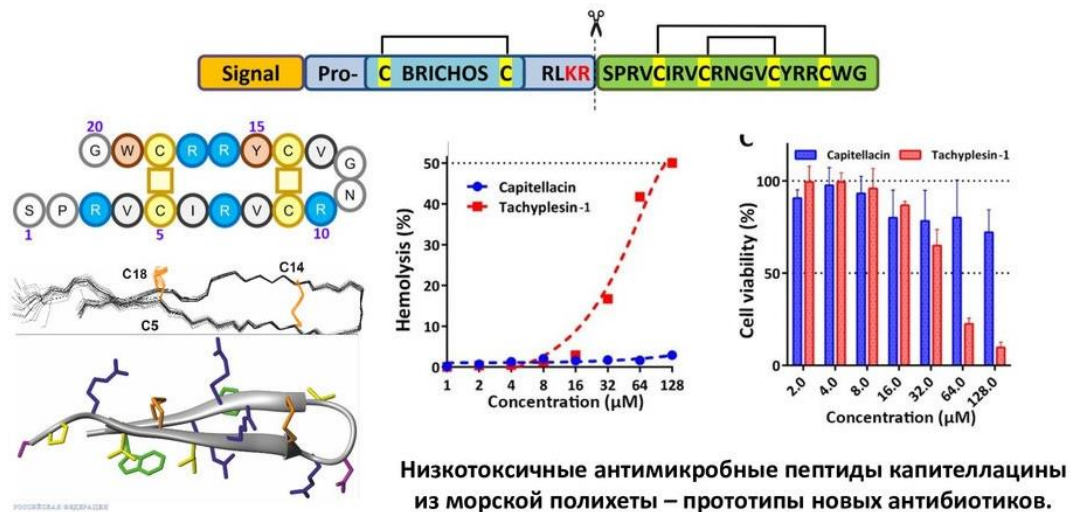
- **Отдел «Учебно-научный центр»**
Т.В. Овчинникова

ИФ 0

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

ИФ 26,4

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



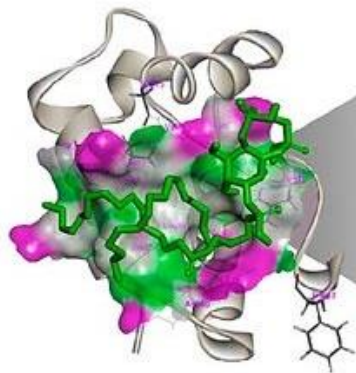
1. Патент РФ (RU № 2721273).
2. Pantelev PV и др. (2020) Structure Elucidation and Functional Studies of a Novel β -hairpin Antimicrobial Peptide from the Marine Polychaeta *Capitella teleta*. *Marine Drugs* (ИФ 4.073).

Стремительный рост антибиотикорезистентности в сочетании с трудностями поиска новых антибиотиков требуют принципиально иных подходов к созданию противоинфекционных лекарственных средств.

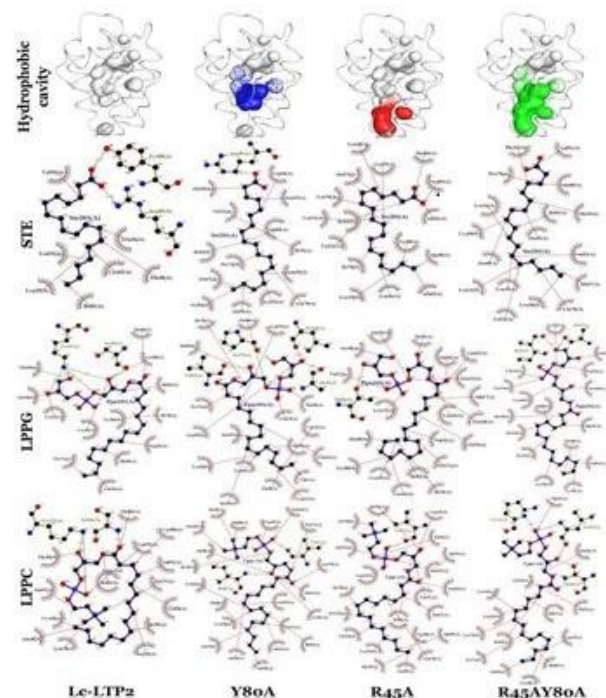
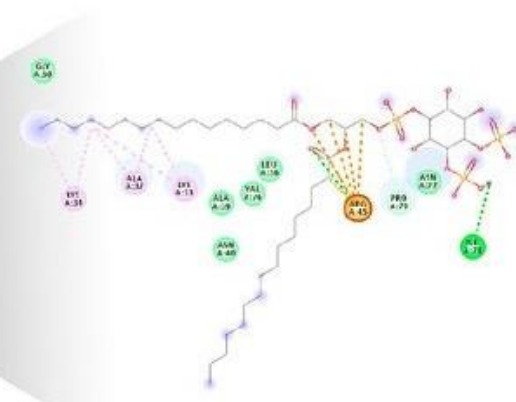
В рамках работы по изучению BRICHOS-ассоциированных антимикробных пептидов (АМП) животных, проводимой в УНЦ ИБХ РАН, были получены рекомбинантные аналоги новых защитных катионных пептидов из морской полихеты *Capitella teleta*, а также изучены их структурные и биологические свойства, включая молекулярный механизм действия против бактерий. Капителлацины – новые BRICHOS-ассоциированные АМП из полихеты *C. teleta*, обладающие структурным сходством с тахиплезинами – защитными пептидами мечехвостов.

- Показан широкий спектр активности в отношении мультирезистентных бактерий и уникальный механизм действия капителлацинов. Сравнительно невысокая амфифильность обуславливает низкую цитотоксичность капителлацинов в отношении нормальных клеток млекопитающих. С помощью ЯМР спектроскопии высокого разрешения определена пространственная структура и изучена мембранная активность рекомбинантного аналога антимикробного пептида капителлацина (capitellacin) из морского червя *Capitella teleta*. Капителлацин в водном растворе представлен в виде мономера и образует правозакрученную бета-шпильку. Его структура не обладает амфипатичностью, типичной для гомологичных ему пептидов, однако он сохраняет свою способность пронизывать мембрану. Вероятно, из-за отсутствия явно выраженной амфипатичности капителлацин не образует димеров в модельных мембранах и сохраняет свою конформацию в мембранном окружении.
- Исследование пространственной структуры и мембранной активности антимикробных пептидов открывает путь к разработке новых антибиотиков на их основе.

В СТРУКТУРЕ ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА ЧЕЧЕВИЦЫ Lc-LTP2 ВЫЯВЛЕНЫ КЛЮЧЕВЫЕ АМИНОКИСЛОТНЫЕ ОСТАТКИ, ОТВЕТСТВЕННЫЕ ЗА ОБРАЗОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ С ЛИПИДАМИ. НАЙДЕН НОВЫЙ СИГНАЛЬНЫЙ ЛИГАНД Lc-LTP2 – ЛИПИД PI(4,5)P2



Lc-LTP2 - PI(4,5)P2 (phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate)



1. Melnikova D и др. (2020) Interaction between the Lentil Lipid Transfer Protein Lc-LTP2 and Its Novel Signal Ligand PI(4,5)P2. *Membranes (Basel)* (ИФ 3.094)
2. Melnikova DN и др. (2020) New insights into ligand binding by plant lipid transfer proteins: A case study of the lentil Lc-LTP2. *Biochem Biophys Res Commun* (ИФ 2.985)

Липид-транспортирующие белки (LTP) участвуют в ряде процессов в растениях благодаря своей способности связывать и переносить широкий спектр гидрофобных лигандов. Пространственная структура LTP характеризуется наличием внутренней полости, способной вмещать гидрофобные лиганды. В УНЦ впервые показано, что Lc-LTP2 чечевицы, а также LTP из других растений, связывают фосфатидилинозитол (4,5)-бисфосфат (PI(4,5)P2) и, возможно, участвуют в передаче сигнала.

- ❑ Впервые показано, что два консервативных для растительных LTP аминокислотных остатка, Arg45 и Tyr80, играют важную роль как в иницирующих взаимодействиях с различными лигандами, так и в стабилизации белок-лигандных комплексов.
- ❑ Также показано, что Tyr80 играет ключевую роль во взаимодействии Lc-LTP2 с мембраной.

АНАЛИЗ ПУБЛИКАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ОТДЕЛОВ И ЛАБОРАТОРИЙ ИБХ РАН 2020





НЕМНОГО ТЕРМИНОЛОГИИ

1. **Импакт-фактор** – это численный показатель важности научного журнала, входящего в **WoS**, отражающий среднее количество цитирований на статью, рассчитываемый на основе годового количества цитирований на статьи, опубликованные в журнале за предшествующие **два года**, рассчитываемый по формуле:

$$IF_{2018} = \frac{\text{Количество цитирований в 2018}}{\text{Количество опубликованных документов за 2016 и 2017}}$$

2. В **Scopus** используется другой показатель – **CiteScore**, который является тем же импакт-фактором, но показатель количества опубликованных документов берется за **три года**:

$$CiteScore_{2018} = \frac{\text{Количество цитирований в 2018}}{\text{Количество опубликованных документов за 2015, 2016 и 2017}}$$

3. Баллы ИБХ вычисляются исходя из квартиля журнала по **WoS: Q1 – 4 балла, Q2 – 3 балла, Q3 – 2 балла, Q4 – 1 балл.**
4. **КБПР (комплексный балл публикационной результативности)** – показатель, введенный Минобрнауки для оценки институтов. Вклад отдельной статьи в копилку каждого института рассчитывается с учетом количества авторов в публикации и аффилиаций у каждого автора. Также учитываются квартили журналов по **WoS: Q1 – 20 баллов, Q2 – 10 баллов, Q3 – 5 баллов, Q4 – 2,5 баллов, WoS (без core-collection) – 1, Scopus (не вх. в WoS) – 1, RSCI – 1, ВАК – 0,12, книги – 1.**



ДИНАМИКА ПУБЛИКАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ИБХ 2016 – 2017 – 2018 – 2019 – 2020

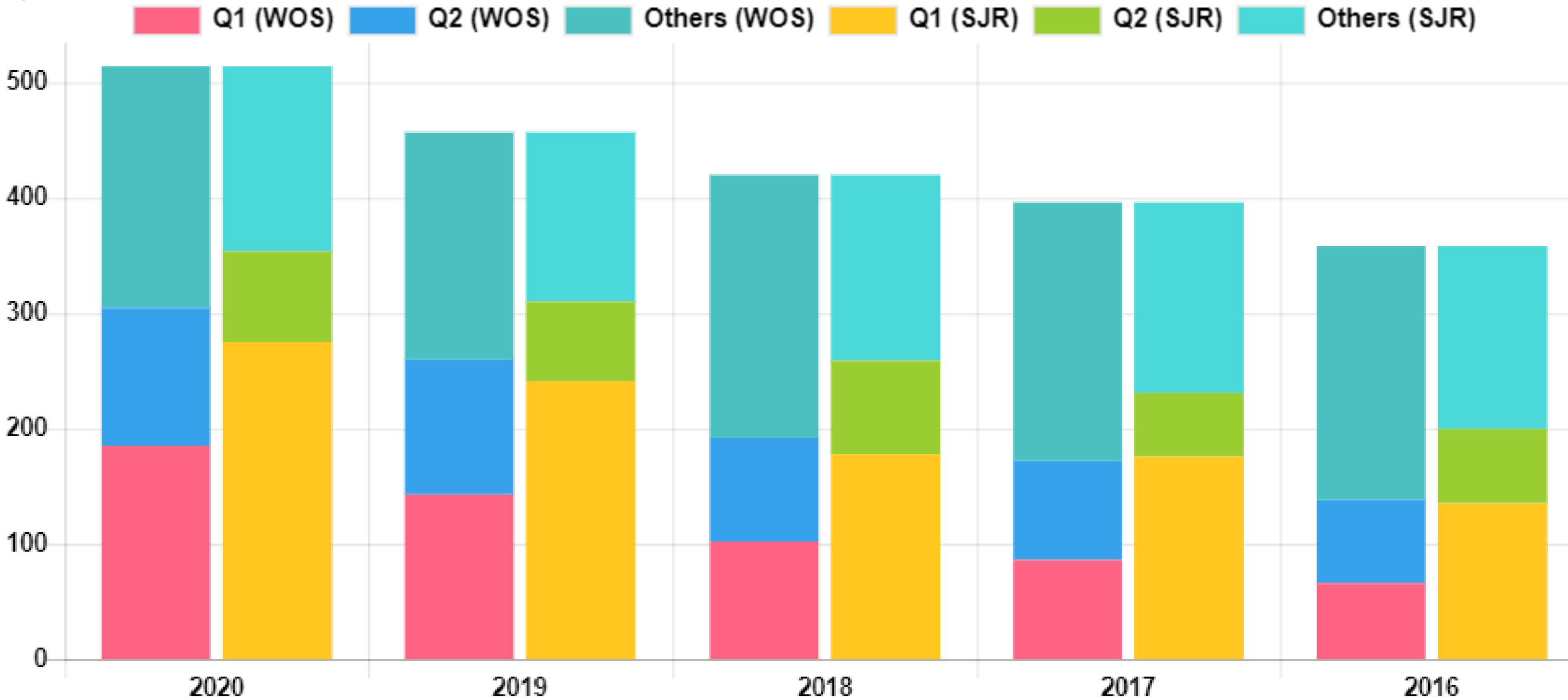
Год	Баллы WoS/Scopus	КБПР*	Кол-во статей	Кол-во в Q1 (WoS)	Кол-во в Q1 (Scopus)	Сумм. ИФ	Кол-во статей с ИФ>5	Кол-во статей с ИФ>9	Средний ИФ
2020	1256 / 1517	1618	515	186 / 36%	276 / 54%	1888	88 / 17%	31 / 6%	3.71
2019	1076 / 1354	1417	456	143 / 31%	241 / 53%	1373	67 / 15%	17 / 4%	3.02
2018	866 / 1148		420	102 / 24%	178 / 42%	1218	54 / 13%	27 / 6%	2.9
2017	782 / 1093		396	86 / 22%	176 / 44%	1008	32 / 8%	14 / 4%	2.55
2016	662 / 939		358	66 / 18%	135 / 38%	928	30 / 8%	13 / 4%	2.59

- ❑ *КБПР (комплексный балл публикационной результативности) – показатель, введенный Минобрнауки для оценки институтов. Вклад отдельной статьи в копилку каждого института рассчитывается с учетом количества авторов в публикации и аффилиаций у каждого автора.
- ❑ Для институтов I категории рост должен составить не менее 6.7 % в год.
- ❑ Целевой показатель для ИБХ РАН на 2020 год – 1512 балла



ДИНАМИКА ПУБЛИКАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ИБХ 2016 – 2017 – 2018 – 2019 – 2020

2020



Стабильный рост как общего числа публикаций, так и числа статей в журналах Q1 как по WoS, так и по Scopus



ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ ИБХ РАН



ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ ИБХ (в баллах ИБХ)

2019

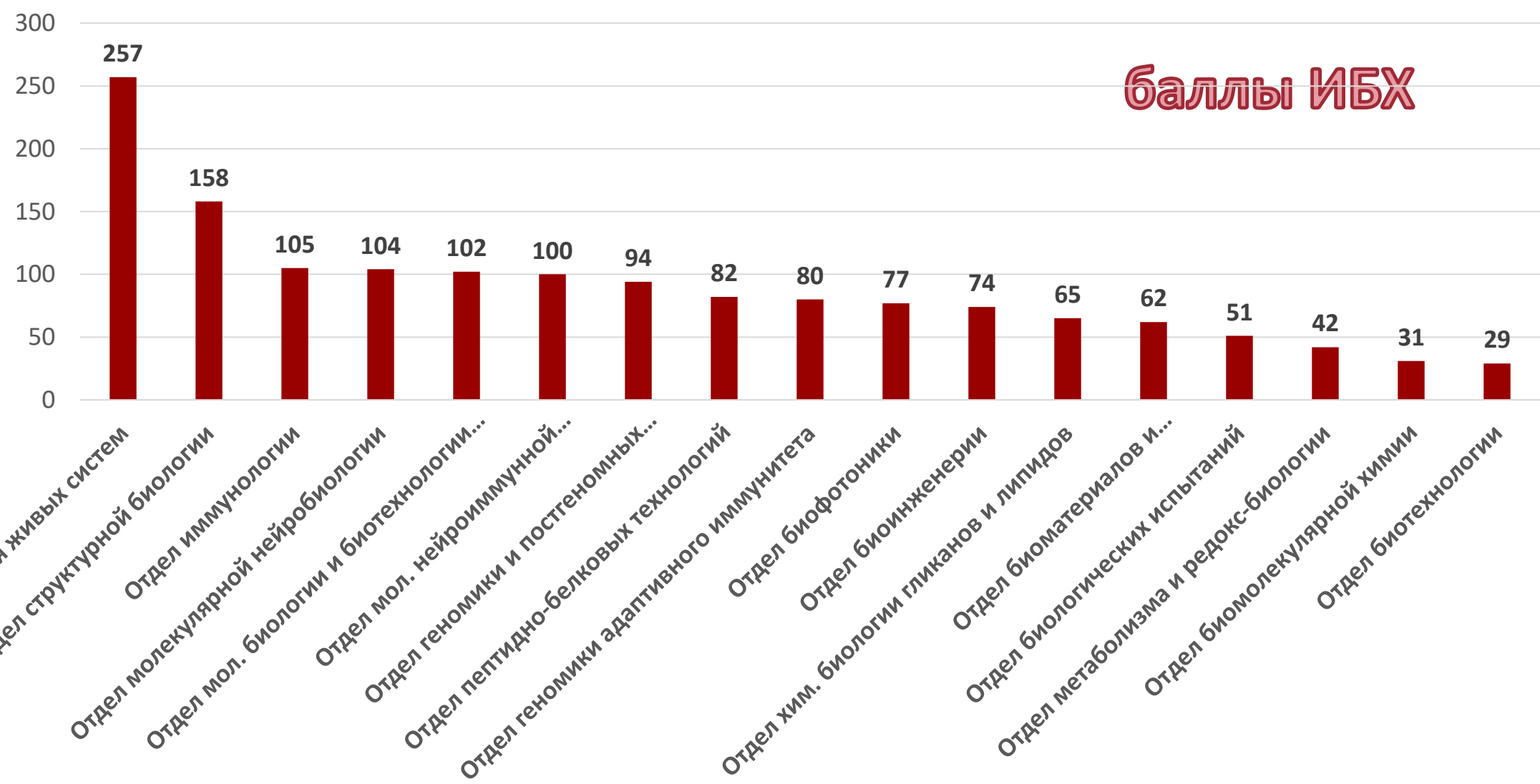


СРАВНИМ



ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ ИБХ РАН (в баллах ИБХ)

2020





ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ ИБХ

(баллы ИБХ / количество бюджетных научных ставок)

2019



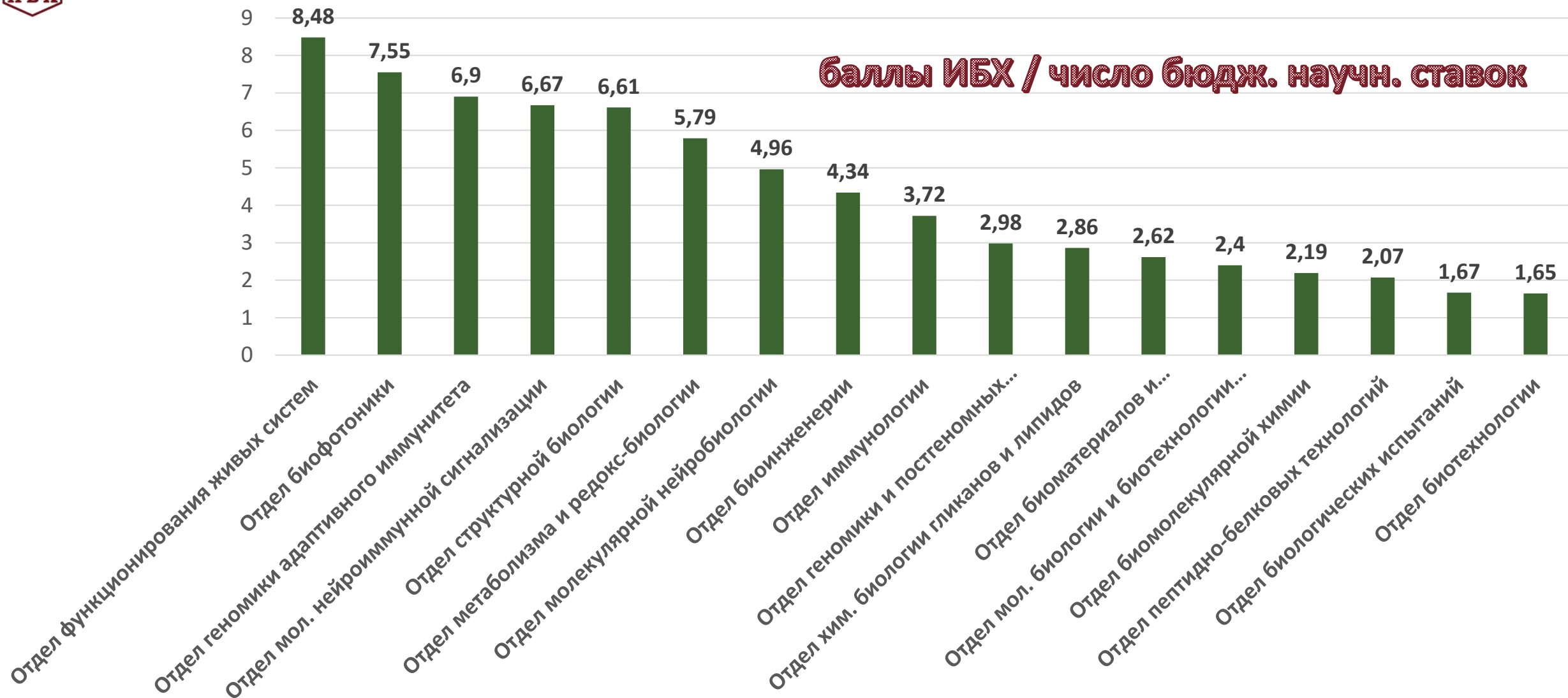
СРАВНИМ



ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ ИБХ РАН

(в баллах ИБХ / число бюджетных научных ставок)

2020

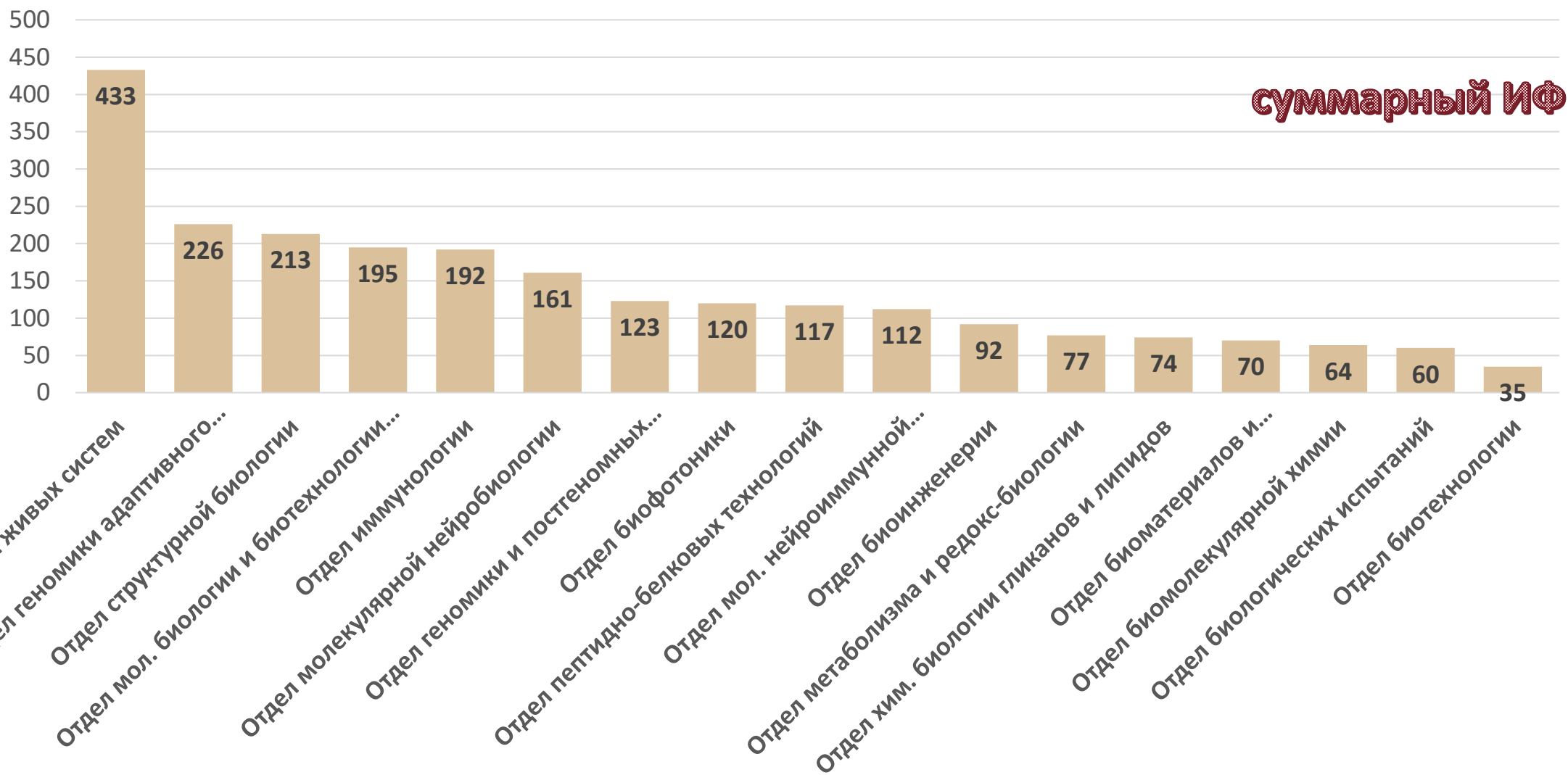




ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ ИБХ РАН

(суммарный импакт-фактор публикаций отделов)

2020

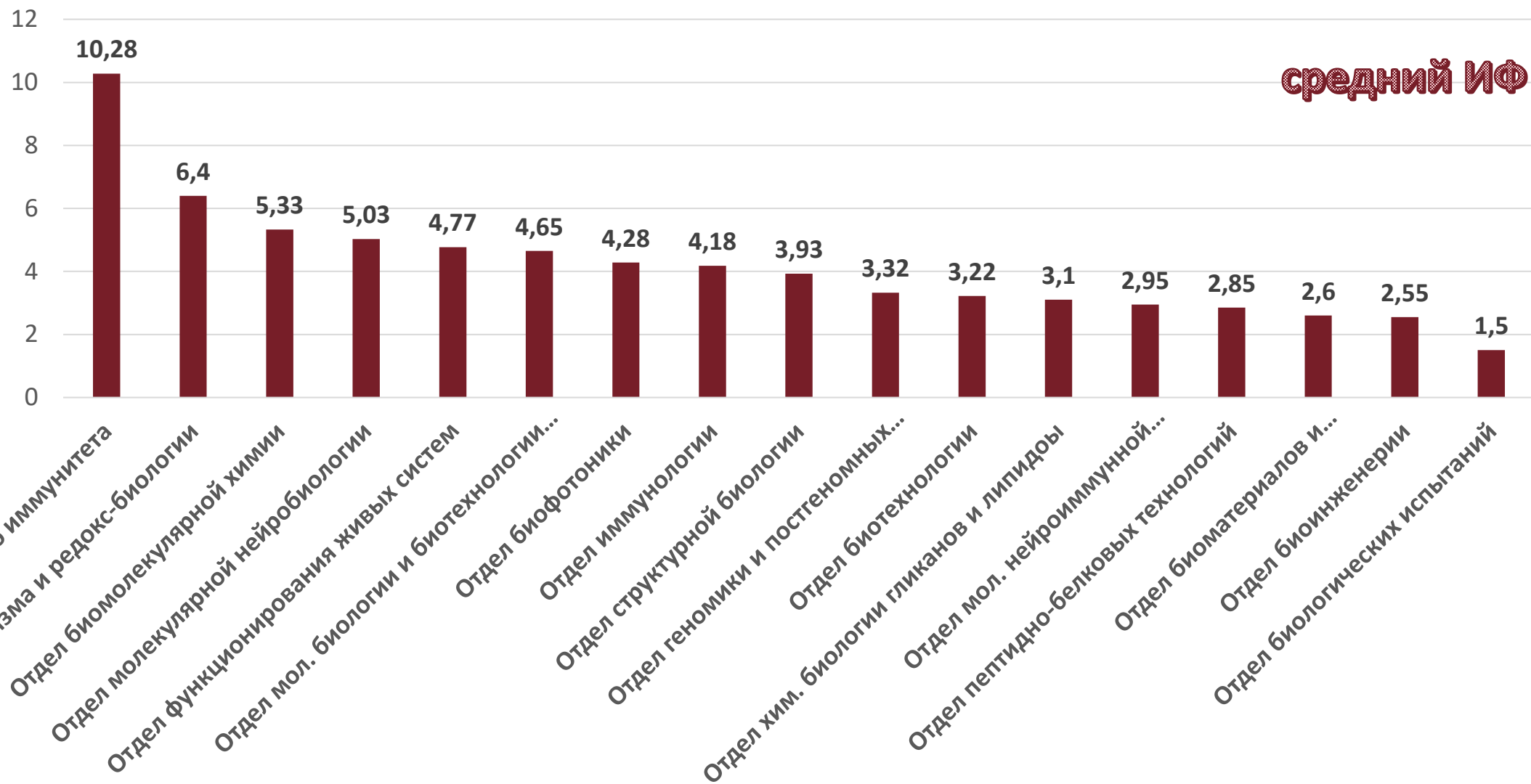




ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ ИБХ РАН

(средний импакт-фактор публикаций отделов)

2020



В БАЛЛАХ ИБХ (БЕЗ УЧЕТА ЧИСЛЕННОСТИ СОТРУДНИКОВ) ОТДЕЛЫ

- I. **Функционирования живых систем** *ОА Донцова*
- II. **Структурной биологии** *АС Арсеньев*
- III. **Иммунологии** *РВ Петров*
- IV. **Молекулярной нейробиологии** *АВ Семьянов*
- V. **Молекулярной биологии и биотехнологии растений**
СК Завриев

СУММАРНЫЙ ИФ ПУБЛИКАЦИЙ ОТДЕЛОВ

- I. **Функционирования живых систем** *ОА Донцова*
- II. **Геномики адаптивного иммунитета** *ДМ Чудаков*
- III. **Структурной биологии** *АС Арсеньев*
- IV. **Молекулярной биологии и биотехнологии растений**
СК Завриев
- V. **Иммунологии** *РВ Петров*

В БАЛЛАХ ИБХ / КОЛ-ВО БЮДЖЕТНЫХ НАУЧНЫХ СТАВОК ОТДЕЛЫ

- I. **Функционирования живых систем** *ОА Донцова*
- II. **Биофотоники** *КА Лукьянов*
- III. **Геномики адаптивного иммунитета** *ДМ Чудаков*
- IV. **Молекулярной нейроиммунной сигнализации**
ВИ Цетлин
- V. **Структурной биологии** *АС Арсеньев*

СРЕДНИЙ ИФ ПУБЛИКАЦИЙ ОТДЕЛОВ

- I. **Геномики адаптивного иммунитета** *ДМ Чудаков*
- II. **Метаболизма и редокс-биологии** *ВВ Белоусов*
- III. **Биомолекулярной химии** *ИВ Ямпольский*
- IV. **Молекулярной нейробиологии** *АВ Семьянов*
- V. **Функционирования живых систем** *ОА Донцова*



ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАБОРАТОРИЙ И ГРУПП ИБХ РАН



ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАБОРАТОРИЙ И ГРУПП ИБХ

(баллы ИБХ)

2019

Баллы ИБХ (2019)



СРАВНИМ



ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАБОРАТОРИЙ И ГРУПП ИБХ

2019

(баллы ИБХ) Продолжение



СРАВНИМ



ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАБОРАТОРИЙ И ГРУПП ИБХ РАН (баллы ИБХ)

2020





ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАБОРАТОРИЙ И ГРУПП ИБХ РАН

(баллы ИБХ)

2020



≥20



ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАБОРАТОРИЙ И ГРУПП ИБХ РАН

(баллы ИБХ)

2020



≥10



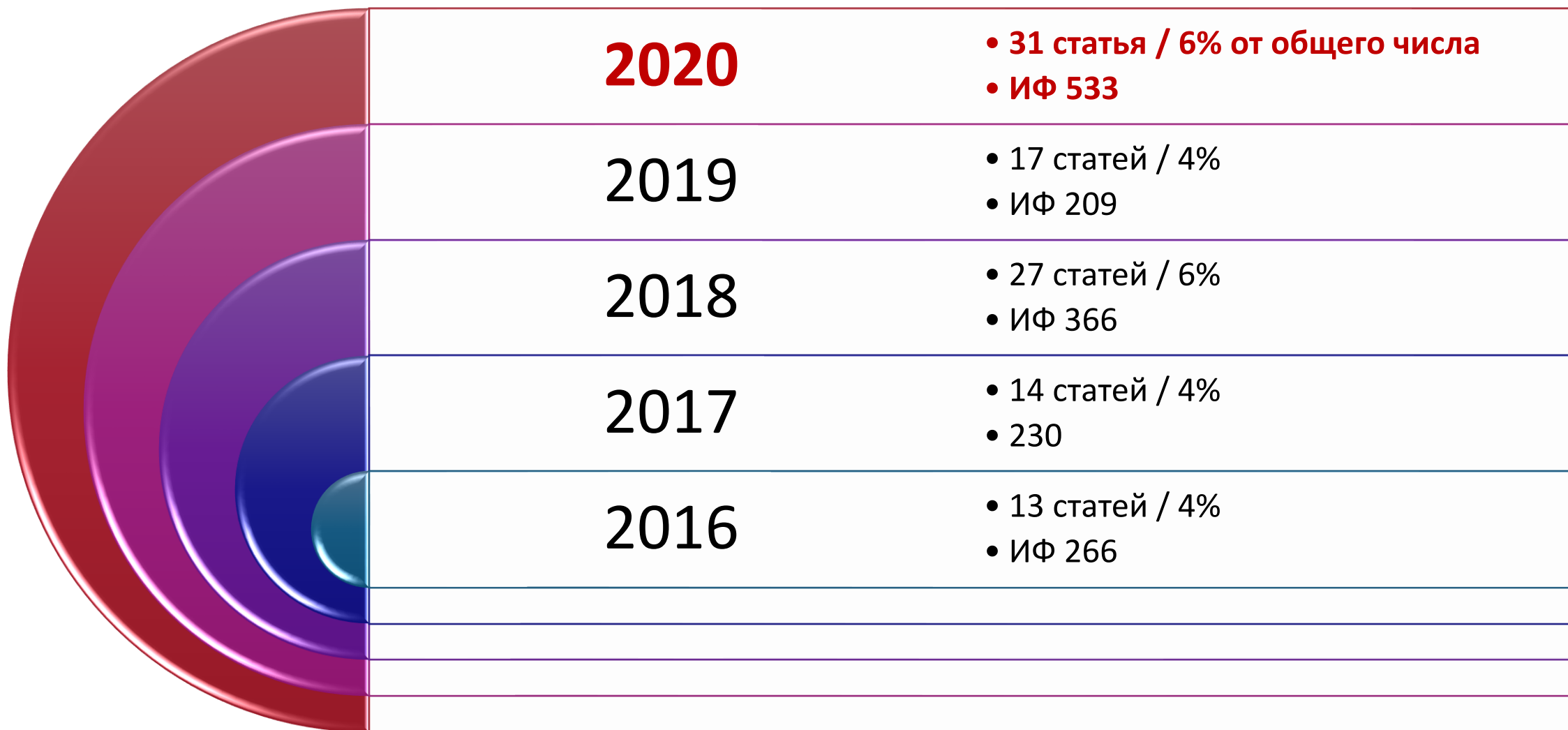
ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАБОРАТОРИЙ И ГРУПП ИБХ РАН (баллы ИБХ)

2020





ПУБЛИКАЦИИ ИБХ РАН С ИФ > 9





Журнал	ИФ	Кол-во статей
NATURE	42.778	2
NATURE REVIEWS IMMUNOLOGY	40.358	1
NATURE BIOTECHNOLOGY	36.558	2
NATURE REVIEWS NEUROSCIENCE	33.654	1
IMMUNITY	22.553	1
CELL METABOLISM	21.567	1
NATURE IMMUNOLOGY	20.479	1
NATURE BIOMEDICAL ENGINEERING	18.952	1
ACS NANO	14.588	1
LIGHT: SCIENCE AND APPLICATIONS	13.714	1
SCIENCE ADVANCES	13.116	1
NATURE CHEMICAL BIOLOGY	12.587	1
NATURE COMMUNICATIONS	12.121	4
NUCLEIC ACIDS RESEARCH	11.501	4
GENOME RESEARCH	11.093	1
BIOSENSORS AND BIOELECTRONICS	10.257	1
REDOX BIOLOGY	9.986	1
EMBO JOURNAL	9.889	1
PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE U.S.A.	9.412	5



КАК ОЦЕНИВАЕТ СТАТЬИ МИНОБРНАУКИ?

КБПР – КОМПЛЕКСНЫЙ БАЛЛ ПУБЛИКАЦИОННОЙ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ

2020

СТАТЬИ	ИФ	КБПР
Ge P, Scholl D, Prokhorov NS, Avaylon J, Shneider MM , Browning C, Buth SA, Plattner M, Chakraborty U, Ding K, Leiman PG, Miller JF, Zhou HZ Action of a minimal contractile bactericidal nanomachine. <i>Nature</i>	42.778	1.54
Sharonov GV, Serebrovskaya EO , Yuzhakova DV, Britanova OV, Chudakov DM B cells, plasma cells and antibody repertoires in the tumour microenvironment. <i>Nat Rev Immunol</i>	40.358	5.67
Mitiouchkina T, Mishin AS , Somermeyer LG, Markina NM, Chepurnyh TV , Guglya EB, Karataeva TA, Palkina KA, Shakhova ES, Fakhranurova LI, Chekova SV, Tsarkova AS , Golubev YV, Negrebetsky VV, Dolgushin SA, Shalaev PV, Shlykov D, Melnik OA, Shipunova VO, Deyev SM, Bubyrev AI, Pushin AS , Choob VV, Dolgov SV , Kondrashov FA, Yampolsky IV, Sarkisyan KS Plants with genetically encoded autoluminescence. <i>Nat Biotechnol</i>	36.558	8.46
Semyanov A , Henneberger C, Agarwal A Making sense of astrocytic calcium signals — from acquisition to interpretation. <i>Nat Rev Neurosci</i>	33.654	3.33
Shipunova VO, Komedchikova EN, Kotelnikova PA, Zelepukin IV, Schulga AA, Proshkina GM, Shramova EI , Kutscher HL, Telegin GB , Kabashin AV, Prasad PN, Deyev SM Dual Regioselective Targeting the Same Receptor in Nanoparticle-Mediated Combination Immuno/Chemotherapy for Enhanced Image-Guided Cancer Treatment. <i>ACS Nano</i>	14.588	12.50
Terekhov SS, Mokrushina YA, Nazarov AS, Zlobin A, Zalevsky A , Bourenkov G, Golovin A, Belogurov A , Osterman IA, Kulikova AA, Mitkevich VA, Lou HJ, Turk BE, Wilmanns M, Smirnov IV , Altman S, Gabibov AG (2020). A kinase bioscavenger provides antibiotic resistance by extremely tight substrate binding. <i>Sci Adv</i>	13.116	5.88



КБПР: Вклад отдельной статьи в копилку каждого института рассчитывается с учетом количества авторов в публикации и аффилиаций у каждого автора



КАК ОЦЕНИВАЕТ СТАТЬИ МИНОБРНАУКИ?

КБПР – КОМПЛЕКСНЫЙ БАЛЛ ПУБЛИКАЦИОННОЙ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ

2020

СТАТЬИ	ИФ	КБПР
Shipunova VO , Komedchikova EN , Kotelnikova PA , Zelepukin IV , Schulga AA , Proshkina GM , Shramova EI , Kutscher HL, Telegin GB , Kabashin AV, Prasad PN, Deyev SM Dual Regioselective Targeting the Same Receptor in Nanoparticle-Mediated Combination Immuno/Chemotherapy for Enhanced Image-Guided Cancer Treatment. <i>ACS Nano</i>	14.588	12.50
Mitiouchkina T , Mishin AS , Somermeyer LG, Markina NM , Chepurnyh TV , Guglya EB, Karataeva TA , Palkina KA , Shakhova ES , Fakhranurova LI , Chekova SV , Tsarkova AS , Golubev YV, Negrebetsky VV, Dolgushin SA, Shalaev PV, Shlykov D , Melnik OA , Shipunova VO , Deyev SM , Bubyrev AI , Pushin AS , Choob VV, Dolgov SV , Kondrashov FA, Yampolsky IV , Sarkisyan KS Plants with genetically encoded autoluminescence. <i>Nat Biotechnol</i>	36.558	8.46
Terekhov SS , Mokrushina YA , Nazarov AS , Zlobin A , Zalevsky A , Bourenkov G, Golovin A , Belogurov A , Osterman IA, Kulikova AA, Mitkevich VA, Lou HJ, Turk BE, Wilmanns M, Smirnov IV , Altman S, Gabibov AG (2020). A kinase bioscavenger provides antibiotic resistance by extremely tight substrate binding. <i>Sci Adv</i>	13.116	5.88
Sharonov GV , Serebrovskaya EO , Yuzhakova DV, Britanova OV , Chudakov DM B cells, plasma cells and antibody repertoires in the tumour microenvironment. <i>Nat Rev Immunol</i>	40.358	5.67
Semyanov A , Henneberger C, Agarwal A Making sense of astrocytic calcium signals — from acquisition to interpretation. <i>Nat Rev Neurosci</i>	33.654	3.33
Ge P, Scholl D, Prokhorov NS, Avaylon J, Shneider MM , Browning C, Buth SA, Plattner M, Chakraborty U, Ding K, Leiman PG, Miller JF, Zhou HZ Action of a minimal contractile bactericidal nanomachine. <i>Nature</i>	42.778	1.54



КБПР: Вклад отдельной статьи в копилку каждого института рассчитывается с учетом количества авторов в публикации и аффилиаций у каждого автора

1. Ge P, Scholl D, Prokhorov NS, Avaylon J, [Shneider MM](#), Browning C, Buth SA, Plattner M, Chakraborty U, Ding K, Leiman PG, Miller JF, Zhou HZ Action of a minimal contractile bactericidal nanomachine. *Nature* (ИФ=42.778) (КБПР=1.54)
2. Sharma V, Sood R, Khlaifia A, Eslamizade MJ, Hung TY, Lou D, Asgarihafshejani A, Lalzar M, Kiniry SJ, Stokes MP, Cohen N, Nelson AJ, Abell K, Possemato AP, Gal-Ben-Ari S, Truong VT, Wang P, Yiannakas A, Saffarzadeh F, Cuello AC, Nader K, Kaufman RJ, Costa-Mattioli M, [Baranov PV](#), Quintana A, Sanz E, Khoutorsky A, Lacaille JC, Rosenblum K, Sonenberg N eIF2 α controls memory consolidation via excitatory and somatostatin neurons. *Nature* (ИФ=42.778) (КБПР=0.33)
3. [Sharonov GV](#), [Serebrovskaya EO](#), Yuzhakova DV, [Britanova OV](#), [Chudakov DM](#) B cells, plasma cells and antibody repertoires in the tumour microenvironment. *Nat Rev Immunol* (ИФ=40.358) (КБПР=5.67)
4. [Mitiouchkina T](#), [Mishin AS](#), Somermeyer LG, [Markina NM](#), [Chepurnyh TV](#), Guglya EB, [Karataeva TA](#), [Palkina KA](#), [Shakhova ES](#), [Fakhranurova LI](#), [Chekova SV](#), [Tsarkova AS](#), Golubev YV, Negrebetsky VV, Dolgushin SA, Shalaev PV, [Shlykov D](#), [Melnik OA](#), [Shipunova VO](#), [Deyev SM](#), [Bubyrev AI](#), [Pushin AS](#), Choob VV, [Dolgov SV](#), Kondrashov FA, [Yampolsky IV](#), [Sarkisyan KS](#) Plants with genetically encoded autoluminescence. *Nat Biotechnol* (ИФ=36.558) (КБПР=8,46)
5. Barennes P, Quiniou V, [Shugay M](#), [Egorov ES](#), Davydov AN, [Chudakov DM](#), Uddin I, Ismail M, Oakes T, Chain B, Eugster A, Kashofer K, Rainer PP, Darko S, Ransier A, Douek DC, Klatzmann D, Mariotti-Ferrandiz E Benchmarking of T cell receptor repertoire profiling methods reveals large systematic biases. *Nat Biotechnol* (ИФ=36.558) (КБПР=1.76)
6. [Semyanov A](#), Henneberger C, Agarwal A Making sense of astrocytic calcium signals — from acquisition to interpretation. *Nat Rev Neurosci* (ИФ=33.654) (КБПР=3.33)
7. Shomuradova AS, Vagida MS, Sheetikov SA, Zornikova KV, Kiryukhin D, Titov A, Peshkova IO, Khmelevskaya A, Dianov DV, Malasheva M, Shmelev A, Serdyuk Y, [Bagaev DV](#), Pivnyuk A, Shcherbinin DS, Maleeva AV, Shakirova NT, Pilunov A, Malko DB, Khamaganova EG, Biderman B, Ivanov A, [Shugay M](#), Efimov GA SARS-CoV-2 Epitopes Are Recognized by a Public and Diverse Repertoire of Human T Cell Receptors. *Immunity* (ИФ=22.553) (КБПР=0.69)

8. **Pak VV**, Ezerina D, Lyublinskaya OG, Pedre B, Tyurin-Kuzmin PA, **Mishina NM**, Thauvin M, Young D, Wahni K, Martínez Gache SA, **Demidovich AD**, **Ermakova YG**, Maslova YD, **Shokhina AG**, Eroglu E, **Bilan DS**, Bogeski I, Michel T, Vriz S, Messens J, **Belousov VV** Ultrasensitive Genetically Encoded Indicator for Hydrogen Peroxide Identifies Roles for the Oxidant in Cell Migration and Mitochondrial Function. *Cell Metab* (ИФ=21.567) (КБПР=5.48)
9. Galletti G, De Simone G, EMC Mazza, Puccio S, Mezzanotte C, Bi TM, Davydov AN, Metsger M, Scamardella E, Alvisi G, De Paoli F, Zanon V, Scarpa A, Camisa B, Colombo FS, Anselmo A, Peano C, Polletti S, Mavilio D, Gattinoni L, Boi SK, Youngblood BA, Jones RE, Baird DM, Gostick E, Llewellyn-Lacey S, Ladell K, Price DA, **Chudakov DM**, Newell EW, Casucci M, Lugli E Two subsets of stem-like CD8 + memory T cell progenitors with distinct fate commitments in humans. *Nat Immunol* (ИФ=20.479) (КБПР=0.21)
10. **Nikitin MP**, **Zelepukin IV**, **Shipunova VO**, Sokolov IL, **Deyev SM**, Nikitin PI Enhancement of the blood-circulation time and performance of nanomedicines via the forced clearance of erythrocytes. *Nat Biomed Eng* (ИФ=18.952) (КБПР=6.67)
11. **Shipunova VO**, **Komedchikova EN**, **Kotelnikova PA**, **Zelepukin IV**, **Schulga AA**, **Proshkina GM**, **Shramova EI**, Kutscher HL, **Telegin GB**, Kabashin AV, Prasad PN, **Deyev SM** Dual Regioselective Targeting the Same Receptor in Nanoparticle-Mediated Combination Immuno/Chemotherapy for Enhanced Image-Guided Cancer Treatment. *ACS Nano* (ИФ=14.588) (КБПР=12.5)
12. Kakkar T, Keijzer C, Rodier M, Bukharova T, **Taliansky M**, Love AJ, Milner JJ, Karimullah AS, Barron LD, Gadegaard N, Laphorn AJ, Kadodwala M Superchiral near fields detect virus structure. *Light Sci Appl* (ИФ=13.714) (КБПР=0.83)
13. **Terekhov SS**, **Mokrushina YA**, **Nazarov AS**, **Zlobin A**, **Zalevsky A**, Bourenkov G, **Golovin A**, **Belogurov A**, Osterman IA, Kulikova AA, Mitkevich VA, Lou HJ, Turk BE, Wilmanns M, **Smirnov IV**, Altman S, **Gabibov AG** (2020). A kinase bioscavenger provides antibiotic resistance by extremely tight substrate binding. *Sci Adv* (ИФ=13.116) (КБПР=5.88)
14. Osterman IA, Wieland M, Maviza TP, Lashkevich KA, Lukianov DA, Komarova ES, Zakalyukina YV, Buschauer R, Shiriaev DI, Leyn SA, Zlamal JE, Biryukov MV, Skvortsov DA, Tashlitsky VN, Polshakov VI, Cheng J, Polikanov YS, Bogdanov AA, Osterman AL, Dmitriev SE, Beckmann R, **Dontsova OA**, Wilson DN, Sergiev PV (2020). Tetracenomycin X inhibits translation by binding within the ribosomal exit tunnel. *Nat Chem Biol* (ИФ=12.587) (КБПР=0.28)

15. Bastola S, [Pavlyukov MS](#), Yamashita D, Ghosh S, Cho H, Kagaya N, Zhang Z, Minata M, Lee Y, Sadahiro H, Yamaguchi S, [Komarova S](#), Yang E, Markert J, Nabors LB, Bhat K, Lee J, Chen Q, Crossman DK, Shin-Ya K, Nam DH, Nakano I (2020). Glioma-initiating cells at tumor edge gain signals from tumor core cells to promote their malignancy. *Nat Commun* (ИФ=12.121) (КБПР=0.91)
16. Marina N, Christie IN, Korsak A, [Doronin M](#), [Brazhe A](#), Hosford PS, Wells JA, Sheikhabaei S, Humoud I, Paton JFR, Lythgoe MF, [Semyanov A](#), Kasparov S, Gourine AV (2020). Astrocytes monitor cerebral perfusion and control systemic circulation to maintain brain blood flow. *Nat Commun* (ИФ=12.121) (КБПР=2.14)
17. Zabelskii D, Alekseev A, Kovalev K, Rankovic V, [Balandin T](#), Soloviov D, Bratanov D, Savelyeva E, Podolyak E, Volkov D, Vaganova S, Astashkin R, Chizhov I, Yutin N, Rulev M, Popov A, Eria-Oliveira AS, Rokitskaya T, Mager T, Antonenko Y, Rosselli R, Armeev G, Shaitan K, Vivaudou M, Büldt G, Rogachev A, Rodriguez-Valera F, [Kirpichnikov M](#), Moser T, Offenhäusser A, Willbold D, Koonin E, Bamberg E, Gordeliy V (2020). Viral rhodopsins 1 are an unique family of light-gated cation channels. *Nat Commun* (ИФ=12.121) (КБПР=0.29)
18. Vakhrusheva OA, Mnatsakanova EA, Galimov YR, Neretina TV, Gerasimov ES, Naumenko SA, Ozerova SG, [Zalevsky AO](#), Yushenova IA, Rodriguez F, Arkhipova IR, Penin AA, Logacheva MD, Bazykin GA, Kondrashov AS (2020). Genomic signatures of recombination in a natural population of the bdelloid rotifer Adineta vaga. *Nat Commun* (ИФ=12.121) (КБПР=0.67)
19. Laptev I, Shvetsova E, Levitskii S, [Serebryakova M](#), Rubtsova M, Zgoda V, [Bogdanov A](#), Kamenski P, Sergiev P, [Dontsova O](#) (2020). METTL15 interacts with the assembly intermediate of murine mitochondrial small ribosomal subunit to form m4C840 12S rRNA residue. *Nucleic Acids Res* (ИФ=11.501) (КБПР=0.5)
20. Osterman IA, Chervontseva ZS, Evfratov SA, Sorokina AV, Rodin VA, Rubtsova MP, Komarova ES, Zatsepin TS, Kabilov MR, Bogdanov AA, Gelfand MS, [Dontsova OA](#), Sergiev PV (2020). Translation at first sight: the influence of leading codons. *Nucleic Acids Res* (ИФ=11.501) (КБПР=0.51)
21. [Pletnev P](#), Pupov D, Pshanichnaya L, Esyunina D, Petushkov I, Nesterchuk M, Osterman I, Rubtsova M, Mardanov A, Ravin N, Sergiev P, Kulbachinskiy A, [Dontsova O](#) (2020). Rewiring of growth-dependent transcription regulation by a point mutation in region 1.1 of the housekeeping σ factor. *Nucleic Acids Res* (ИФ=11.501) (КБПР=1.15)
22. Steinberger J, Shen L, J Kiniry S, Naineni SK, Cencic R, Amiri M, Aboushawareb SAE, Chu J, Maïga RI, Yachnin BJ, Robert F, Sonenberg N, [Baranov PV](#), Pelletier J (2020). Identification and characterization of hippuristanol-resistant mutants reveals eIF4A1 dependencies within mRNA 5' leader regions. *Nucleic Acids Res* (ИФ=11.501) (КБПР=0.71)

23. [Turaev AV](#), Isaakova EA, Severov VV, Bogomazova AN, Zatsepin TS, Sardushkin MV, [Aralov AV](#), Lagarkova MA, Pozmogova GE, Varizhuk AM (2020). Genomic DNA i-motifs as fast sensors responsive to near-physiological pH microchanges. *Biosens Bioelectron* (ИФ=10.257). (КБПР=2)
24. Benitez-Cantos MS, Yordanova MM, OConnor PBF, Zhdanov AV, [Kovalchuk SI](#), Papkovsky DB, [Andreev DE](#), [Baranov PV](#) (2020). Translation initiation downstream from annotated start codons in human mRNAs coevolves with the Kozak context. *Genome Res* (ИФ=11.093) (КБПР=5)
25. Beretta M, Santos CXC, Molenaar C, Hafstad AD, Miller CCJ, Revazian A, Betteridge K, Schröder K, Streckfuß-Bömeke K, Doroshov JH, Fleck RA, Su TP, [Belousov VV](#), Parsons M, Shah AM (2020). Nox4 regulates InsP3 receptor-dependent Ca²⁺ release into mitochondria to promote cell survival. *EMBO J* (ИФ=9.889) (КБПР=0.44)
26. Saeedi Saravi SS, Eroglu E, Waldeck-Weiermair M, Sorrentino A, Steinhorn B, [Belousov V](#), Michel T (2020). Differential endothelial signaling responses elicited by chemogenetic H₂O₂ synthesis. *Redox Biol* (ИФ=9.986) (КБПР=2.86)
27. Logunova NN, Kriukova VV, [Shelyakin PV](#), [Egorov ES](#), Pereverzeva A, [Bozhanova NG](#), [Shugay M](#), Shcherbinin DS, [Pogorelyy MV](#), [Merzlyak EM](#), Zubov VN, Meiler J, [Chudakov DM](#), Apt AS, [Britanova OV](#) (2020). MHC-II alleles shape the CDR3 repertoires of conventional and regulatory naïve CD4 T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* (ИФ=9.412) (КБПР=7.56)
28. Loughran G, Zhdanov AV, Mikhaylova MS, Rozov FN, Datskevich PN, [Kovalchuk SI](#), [Serebryakova MV](#), Kiniry SJ, Michel AM, OConnor PBF, Papkovsky DB, Atkins JF, [Baranov PV](#), Shatsky IN, [Andreev DE](#) (2020). Unusually efficient CUG initiation of an overlapping reading frame in POLG mRNA yields novel protein POLGARF. *Proc Natl Acad Sci U S A* (ИФ=9.412) (КБПР=2.67)
29. [Mokrushina YA](#), [Golovin AV](#), [Smirnov IV](#), Chatziefthimiou SD, [Stepanova AV](#), [Bobik TV](#), [Zalevsky AO](#), [Zlobin AS](#), Konovalov KA, [Terekhov SS](#), [Stepanov AV](#), [Pipiya SO](#), [Shamborant OG](#), Round E, [Belogurov AA](#), Bourenkov G, Makarov AA, Wilmanns M, Xie J, [Blackburn GM](#), [Gabibov AG](#), [Lerner RA](#) (2020). Multiscale computation delivers organophosphorus reactivity and stereoselectivity to immunoglobulin scavengers. *Proc Natl Acad Sci U S A* (ИФ=9.412) (КБПР=6.67)
30. [Terekhov SS](#), Eliseev IE, [Ovchinnikova LA](#), Kabilov MR, Prjibelski AD, Tupikin AE, [Smirnov IV](#), [Belogurov AA](#), Severinov KV, [Lomakin YA](#), [Altman S](#), [Gabibov AG](#) (2020). Liquid drop of DNA libraries reveals total genome information. *Proc Natl Acad Sci U S A* (ИФ=9.412) (КБПР=6.67)
31. Tikhonova TV, Sorokin DY, Hagen WR, Khrenova MG, Muyzer G, [Rakitina TV](#), Shabalin IG, Trofimov AA, Tsallagov SI, Popov VO (2020). Trinuclear copper biocatalytic center forms an active site of thiocyanate dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci U S A* (ИФ=9.412) (КБПР=1)

С Новым
Годом!
2021

