



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

ИТОГИ ВЫПОЛНЕНИЯ НИР В 2021 ГОДУ



АНАЛИЗ ОСНОВНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ



КАДРОВЫЙ СОСТАВ ГНЦ ИБХ РАН

1590 сотрудников, в т.ч.

726 научных сотрудников, включая

9 академиков РАН

6 членов-корреспондентов РАН

61 доктора наук

244 кандидата наук

264 исследователя в возрасте
до 39 лет

Академики РАН

БОГДАНОВ Алексей Алексеевич

ГАБИБОВ Александр Габирович

ДЕЕВ Сергей Михайлович

ДОНЦОВА Ольга Анатольевна

ИВАНОВ Вадим Тихонович

КИРПИЧНИКОВ Михаил Петрович

ЛУКЬЯНОВ Сергей Анатольевич

МИРОШНИКОВ Анатолий Иванович

ПЕТРОВ Рэм Викторович

Члены-корреспонденты РАН

ЗАВРИЕВ Сергей Кириакович

ЛИПКИН Валерий Михайлович

ЛУКЬЯНОВ Константин Анатольевич

СЕМЬЯНОВ Алексей Васильевич

ТОНЕВИЦКИЙ Александр Григорьевич

ЦЕТЛИН Виктор Ионович



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

ИФ 130,5

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

ИФ 68,1

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

ИФ 46,3

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

ИФ 19,9

- **Лаборатория клеточной биологии рецепторов**
(А.С. Горященко)

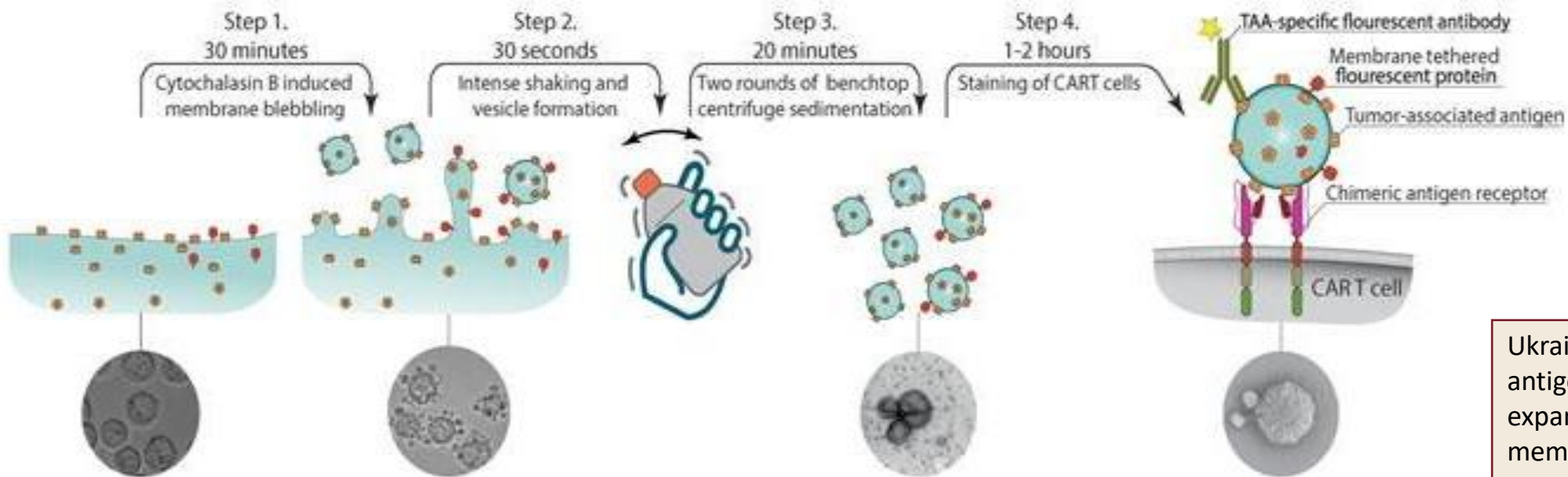
ИФ 11,5

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

ИФ 12,4

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

АНТИГЕН-СПЕЦИФИЧНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ И ЭКСПАНСИЯ CAR-T КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИСКУССТВЕННЫХ ВЕЗИКУЛ



Ukrainskaya V et al. (2021) antigen-specific stimulation and expansion of CAR-T cells using membrane vesicles as target cell surrogates. **Small** (IF=13.281, Qwos1, SJR=3.785, Qsjr1)

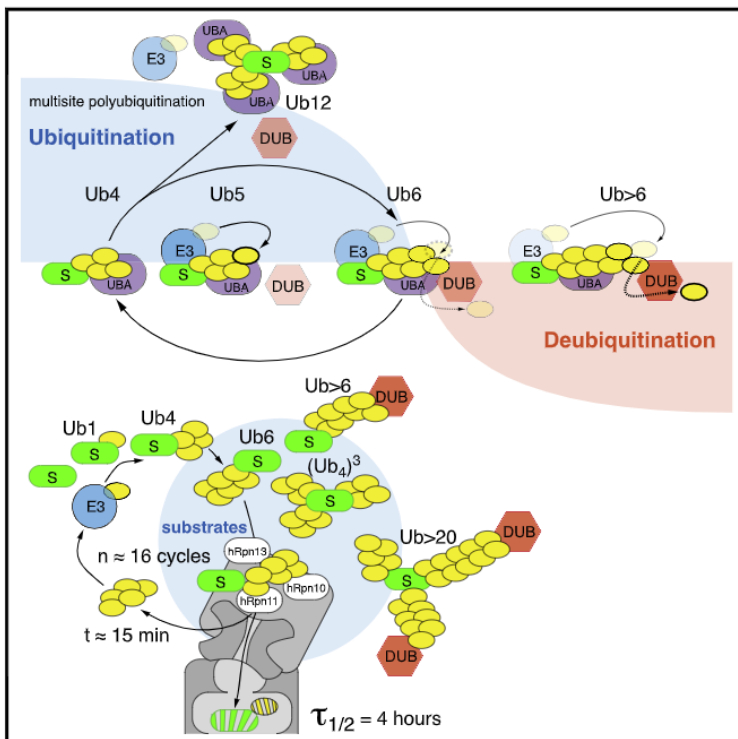
Инженерия Т-клеток человека сделала революцию в онкологии. Разработка CAR-T терапии привела к значительному успеху в лечении В-клеточного лейкоза. Критическим этапом технологии является наработка *in vitro* из донорских аутологичных Т клеток CAR-T с заранее заданной антигенной специфичностью. Для разработки специфического улучшенного протокола экспансии CAR-T-клеток предложено использовать клеточные мембранные везикулы стабильно экспрессирующие поверхностно-связанные антигены CAR. В опытах *in vivo* продемонстрировано что антиген-специфические везикулы способны вызывать более сильную стимуляцию, пролиферацию и функциональную активность CAR-T-клеток. Новая методология значительно расширит возможности получения улучшенных популяций функциональных CAR-T-клеток для терапии рака.

Article

Cell Chemical Biology

In-depth characterization of ubiquitin turnover in mammalian cells by fluorescence tracking

Graphical abstract



Authors

Anna A. Kudriaeva, Ido Livneh,
Mikhail S. Baranov, ...,
Marsel R. Kabilov, Aaron Ciechanover,
Alexey A. Belogurov, Jr.

Correspondence

belogurov@ibch.ru

In brief

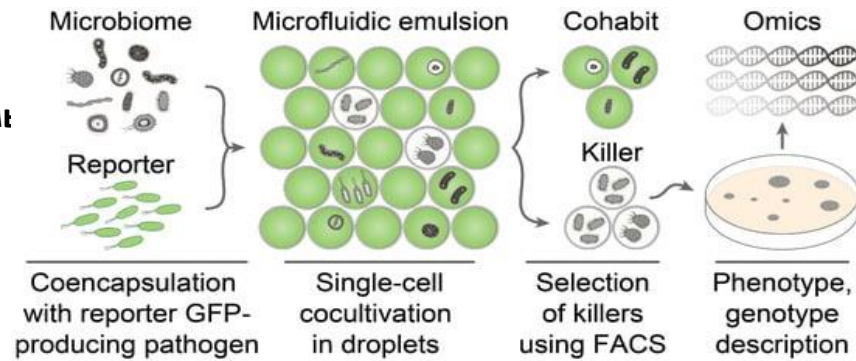
Kudriaeva et al. determined several fundamental characteristics of ubiquitin metabolism in mammalian cells, including its half-life and turnover, average number of ubiquitins per substrate as a dynamic equilibrium between ubiquitin ligases and deubiquitinated enzymes, stability of differentially linked polyubiquitin chains and how often ubiquitin dies when it meets proteasome.

- ❑ Определено время полужизни убиквитина в клетках млекопитающих (4 часа).
- ❑ Показано, что усреднённо в клетке белки конъюгированы с 6 остатками убиквитина.
- ❑ Выявлено, что молекула убиквитина участвует в среднем в 16 циклах конъюгации, а безвозвратные потери убиквитина составляют одна молекула на 4 акта захвата полиубиквитинированного субстрата протеасомой
- ❑ Аминокислотный остаток UbK27 является критичным в терминах внутриклеточной стабильности убиквитина в целом.

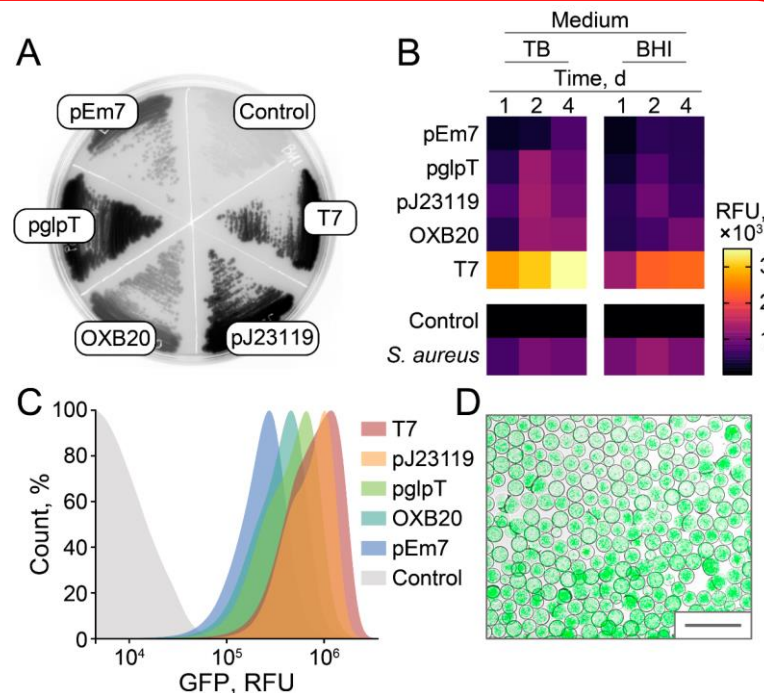
Kudriaeva AA, Livneh I, Baranov MS, Ziganshin RH, Tupikin AE, Zaitseva SO, Kabilov MR, Ciechanover A, Belogurov AA Jr. In-depth characterization of ubiquitin turnover in mammalian cells by fluorescence tracking. 2021 Aug 19;28(8):1192-1205.e9. doi: 10.1016/j.chembiol.2021.02.009. **Cell Chem Biol. (IF 8.1)**

ЖИВЫЕ БИОСЕНСОРЫ ДЛЯ СВЕРХВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СКРИНИНГА АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОТИВ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

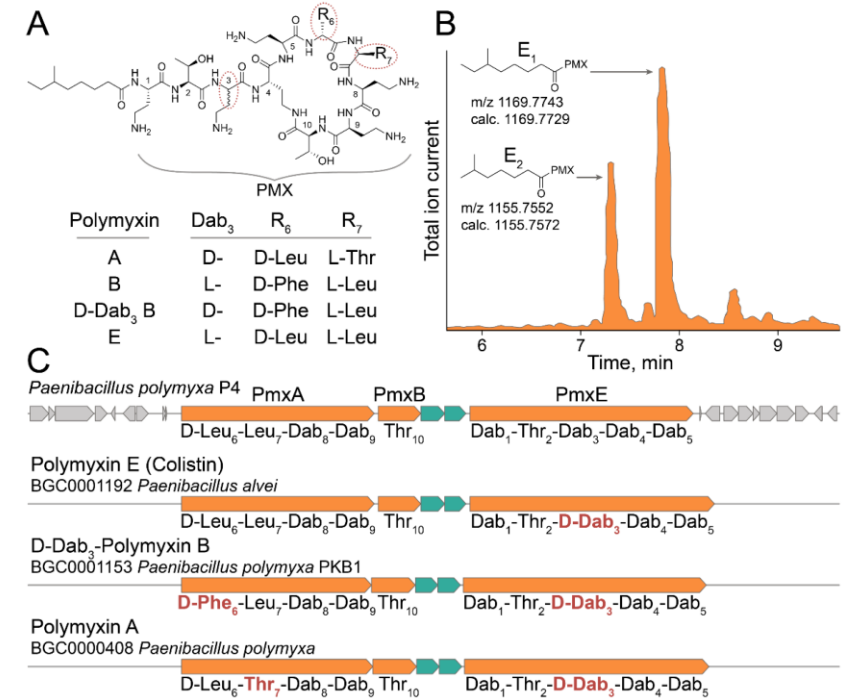
Общая схема скрининга антибиотиков с использованием системы MDE-FACS



Созданы репортерные штаммы для стабильного, гомогенного, высокого уровня продукции зеленого флуоресцентного белка (GFP) в *E. coli*



С использованием разработанного штамма и технологии MDE-FACS из почвенного микробиома отобраны штамм-продуцент полимиксина E и определен кластер генов его биосинтеза



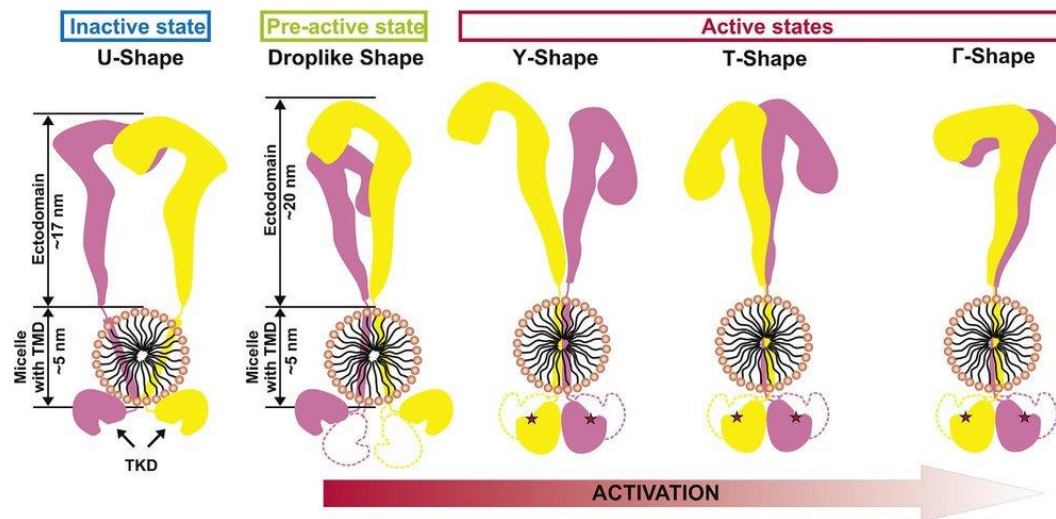
Baranova MN et al Live Biosensors for Ultrahigh-Throughput Screening of Antimicrobial Activity against Gram-Negative Bacteria. *Antibiotics (Basel)* 2021 Sep 24;10(10):1161. (IF=4.639, Qwos2, SJR=0.96, Qsjr1)

ИССЛЕДОВАНА СТРУКТУРА ДИМЕРА ПОЛНОРАЗМЕРНОГО РЕЦЕПТОРА IRR ПРИ НЕЙТРАЛЬНОМ И ЩЕЛОЧНОМ pH

Используя атомно-силовую микроскопию (AFM), мы впервые получили данные о структуре димера полноразмерного рецептора IRR при нейтральном и щелочном pH, то есть в неактивированной и активированной формах соответственно.

- В нейтральной среде неактивный IRR имеет две конформации, одна из которых симметрична и очень похожа на неактивную Λ /U-форму эктодоменов рецепторов IR и IGF-1R, тогда как вторая является каплевидной и асимметричной, схожей с конформацией внеклеточного домена IRR в растворе, данные о которой были получены нами ранее.
- Обе конформации неактивной формы IRR не содержали комплексов внутриклеточных каталитических доменов рецептора.
- При pH 9,0 мы обнаружили две предположительно активные конформации IRR, Г-образную и Т-образную. Обе эти конформации характеризовались наличием комплекса между внутриклеточными каталитическими доменами, ответственных за автофосфорилирование рецептора.

Batishchev OV et al. (2021) Activity-dependent conformational transitions of the insulin receptor-related receptor. *J Biol Chem* (IF=5.157, Qwos2, SJR=2.361, Qsjr1)



Наблюдаемые конформации рецептора IRR и предполагаемая схема его активации. TMD – трансмембранный домен IRR; TKD - тирозинкиназный домен IRR.

Мы также провели количественную оценку соотношения долей наблюдаемых конформаций в зависимости от pH среды.

- Каплевидная форма рецептора преобладала как при pH 7,0, так и при pH 9,0, однако ее доля в нейтральной среде составляла 39%, тогда как при pH 9,0 она достигала 50%.
- Доли U-, T- и Г-образных конформаций значительно различались в нейтральной и щелочной средах.
- Количество молекул в U-образной конформации составило 36 % при pH 7,0 и уменьшилось более чем в два раза, до 16%, при pH 9,0.
- Доля T-образной конформации составляла 14% при pH 7,0, тогда как при pH 9,0 она составила 38%. Г-форма IRR была обнаружена только при pH 9,0, где ее доля составила 7%.



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





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

ИФ 90,2

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

ИФ 140,2

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

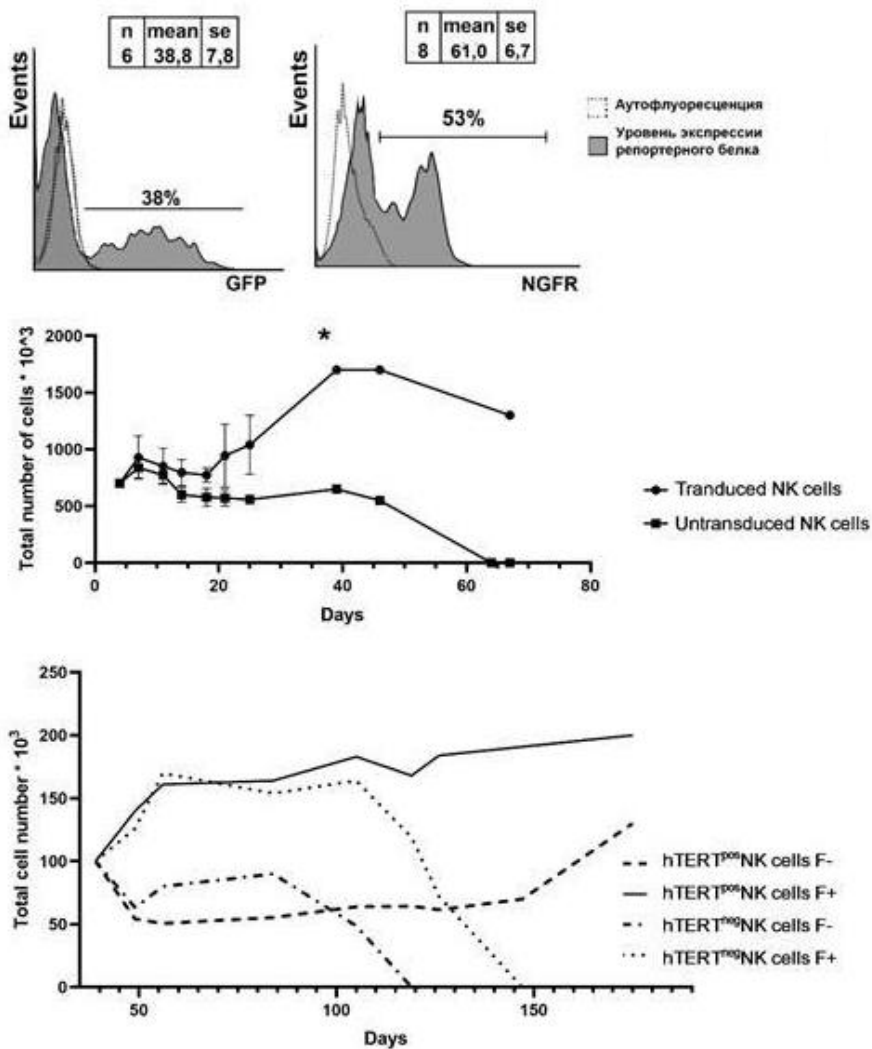
ИФ 14,8

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

ИФ 23,8

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

КАТАЛИТИЧЕСКАЯ СУБЪЕДИНИЦА ТЕЛОМЕРАЗЫ УВЕЛИЧИВАЕТ ПРОЛИФЕРАЦИЮ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ НК-КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА БЕЗ ИММОРТАЛИЗАЦИИ

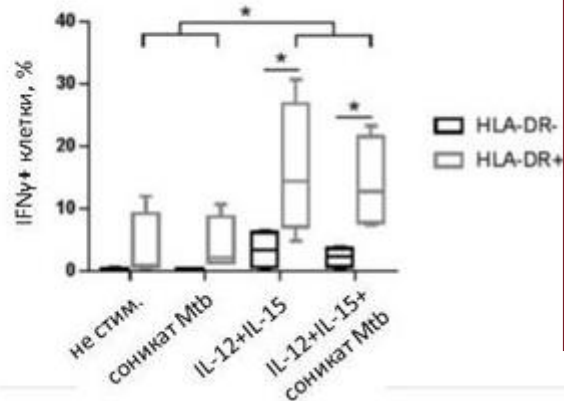
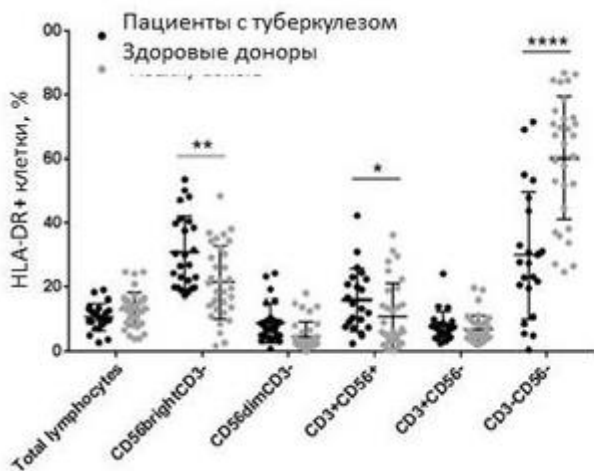


- Была трансдуцирована каталитическая субъединица теломеразы человека (hTERT) в популяции и клональные культуры НК-клеток.
- Условия трансдукции были оптимизированы для повышения эффективности за счет активации клеток фидерными клетками IL-2 и K562-mbIL21.
- Сверхэкспрессия hTERT умеренно влияла на фенотип и дегрануляцию НК-клеток, увеличивала пролиферативный потенциал и увеличивала продолжительность жизни трансдуцированных культур НК-клеток, но не приводила к истинной иммортализации.

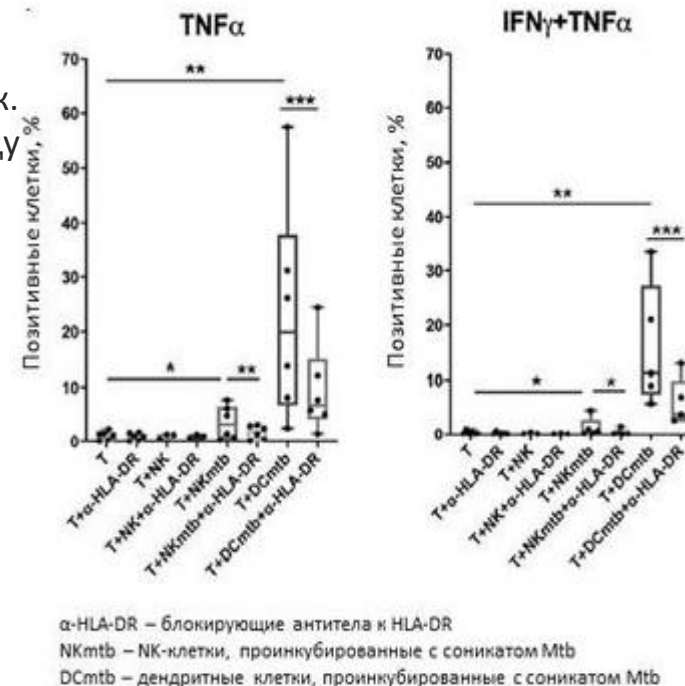
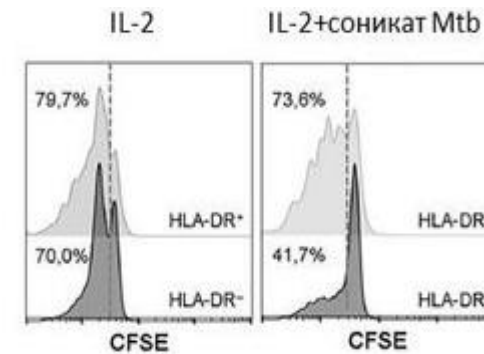
1. Velichinskii RA et al. (2021) The Biological Role and Therapeutic Potential of NK Cells in Hematological and Solid Tumors. *Int J Mol Sci* (IF=5.924, Q_{wos}1, SJR=1.455, Q_{sjr}1)
2. Streltsova MA et al. (2021) Telomerase Reverse Transcriptase Increases Proliferation and Lifespan of Human NK Cells without Immortalization. *Biomedicines* (IF=6.081, Q_{wos}1, SJR=1.511, Q_{sjr}1)

НК-клетки играют важную роль в борьбе с туберкулезной инфекцией: они не только способны убивать инфицированные клетки, но также контролировать активность макрофагов и развитие адаптивного иммунного ответа.

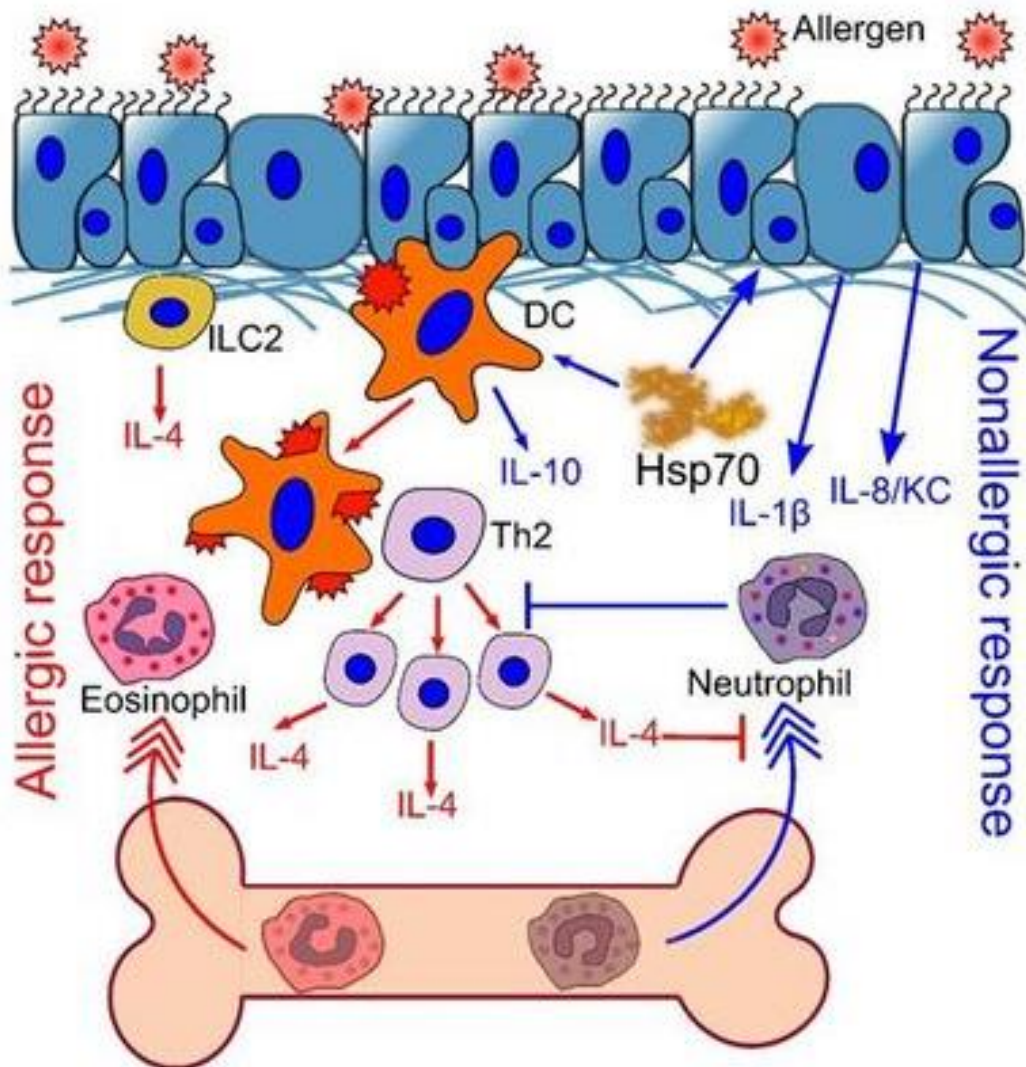
- В сотрудничестве с Институтом туберкулёза и Институтом биологии развития мы обнаружили, что увеличение субпопуляции НК-клеток, экспрессирующих HLA-DR - подтип MHC класса II, в периферической крови туберкулезных больных ассоциировано с пролиферацией этих клеток в ответ на стимуляцию *in vitro* суспензией разрушенных ультразвуком клеток *Mycobacterium tuberculosis*.
- Активированные HLA-DR⁺ НК-клетки имели менее дифференцированный фенотип и повышенную экспрессию рецепторов NKp30 и NKp46, а также интенсивнее продуцировали IFN γ в ответ на микобактериальные антигены.
- Кроме того, было продемонстрировано, что HLA-DR⁺ НК-клетки после предварительной инкубации с микобактериями способны стимулировать HLA-DR-опосредованную активацию аутологичных CD4⁺ Т-клеток.
- Таким образом, функционально активные HLA-DR⁺ НК-клетки могут быть важным связующим звеном между врожденным и адаптивным иммунитетом.



Kust SA et al. (2021) HLA-DR-Positive NK Cells Expand in Response to Mycobacterium Tuberculosis Antigens and Mediate Mycobacteria-Induced T Cell Activation. *Front Immunol* (IF=7.561, Q_{wos}1, SJR=2.646, Q_{sjr}1)



α -HLA-DR – блокирующие антитела к HLA-DR
NKmtb – НК-клетки, проинкубированные с соникатом Mtb
DCmtb – дендритные клетки, проинкубированные с соникатом Mtb



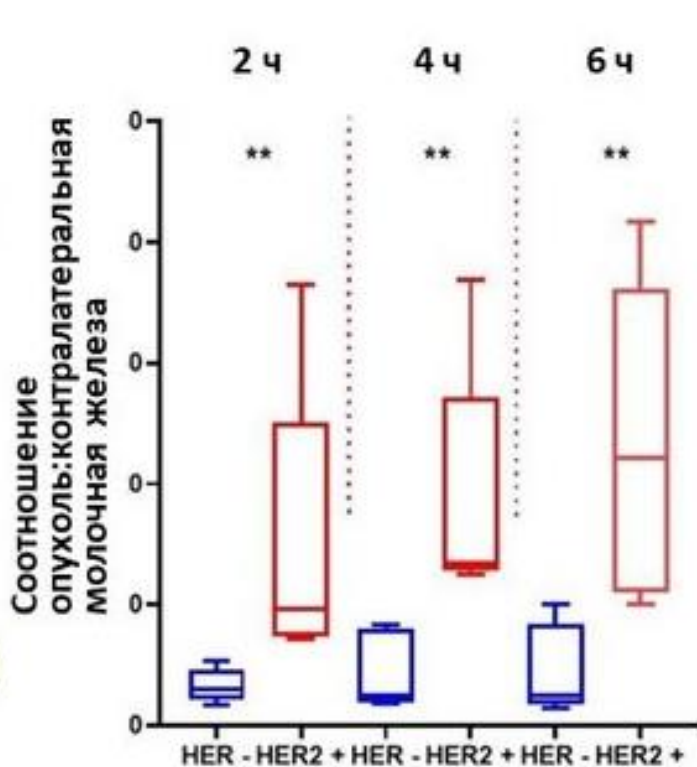
Повышенный уровень внеклеточного HSP70 был обнаружен в сыворотке периферической крови и мокроте пациентов с астмой, а также в жидкости бронхоальвеолярного смыва мышей с индуцированным аллергическим воспалением дыхательных путей.

- В представленном обзоре АТФ-азная и шаперонная активности HSP70 рассмотрены с точки зрения регуляции иммунного ответа при астме.
- Учитывая решающую роль хронического воспалительного ответа при астме, понимание эффектов HSP70 может открыть новые перспективы терапевтического контроля воспаления.

Shevchenko M et al. (2021) The Role of Heat Shock Protein 70 kDa in Asthma. *J Asthma Allergy*. 13:757-772. doi: 10.2147/JAA.S288886. PMID: 33447061; PMCID: PMC7801907. (IF 4,45)



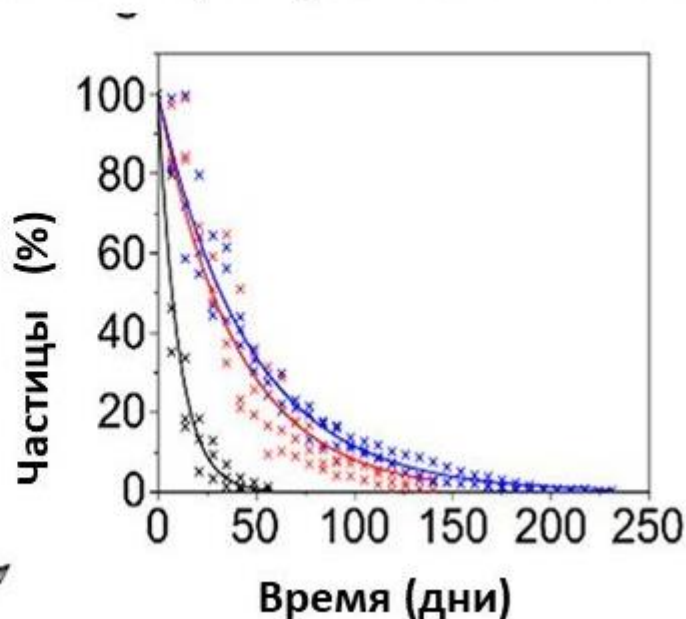
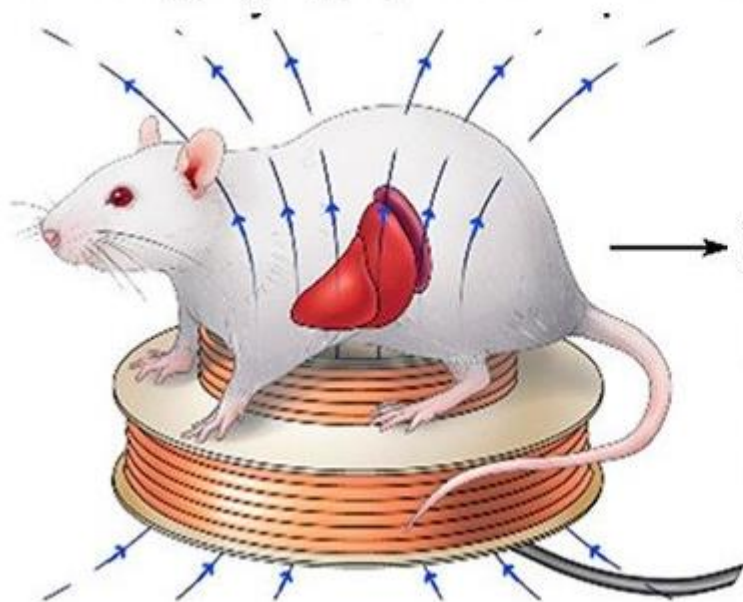
ИННОВАЦИОННЫЙ РАДИОФАРМПРЕПАРАТ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО DARPin G3 ДЛЯ РАДИОНУКЛИДНОЙ ДИАГНОСТИКИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ГИПЕРЭКСПРЕССИЕЙ HER2/neu УСПЕШНО ПРОШЕЛ I ФАЗУ КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ



- Проведена I фаза клинических испытаний инновационного радиофармпрепарата ^{99m}Tc -DARPin G3, созданного на основе меченного ^{99m}Tc технецием рекомбинантного адресного полипептида DARPin G3 и предназначенного для радионуклидной диагностики рака молочной железы с гиперэкспрессией HER2/neu.
- Показано, что визуализация экспрессии опухолевого маркера HER2/neu с использованием ^{99m}Tc -DARPin G3 безопасна, обеспечивает низкую дозовую нагрузку на организм и хорошо переносится пациентами.
- Полученные изображения опухолей позволяют достоверно различать HER2-положительный и HER2-отрицательный рак груди, позволяя врачам выбрать обоснованный протокол лечения.
- Успешные результаты I фазы клинических испытаний служат основанием для дальнейшей клинической разработки диагностического радиофармпрепарата ^{99m}Tc -DARPin G3.

Bragina O et al. (2021) Phase I trial of ^{99m}Tc -(HE)3-G3, a DARPin-based probe for imaging of HER2 expression in breast cancer. *J Nucl Med* (IF=10.057, Q_{wos} 1, SJR=2.319, Q_{sjr} 1)

Анализ деградации магнитных частиц в организме мыши



Разработан магнитно-спектральный неинвазивный подход для прижизненного мониторинга циркуляции наночастиц в кровотоке и деградации магнитных частиц (МЧ) в организме экспериментальных животных.

- ❑ Впервые проведено комплексное исследование долговременной судьбы 17 типов частиц оксида железа в зависимости от 5 изменяемых параметров частиц.
- ❑ Показано замедление биотрансформации МЧ при увеличении их дозы, а также зависимость скорости деградации МЧ от их размера, внутренней структуры и типа внешнего покрытия.
- ❑ Разработано покрытие частиц для блокировки их элиминации системой мононуклеарных фагоцитов, что позволило продлить период полувыведения функциональных частиц из кровотока в 18 раз.
- ❑ Более глубокое понимание процессов биотрансформации и деградации частиц *in vivo* может способствовать рациональному дизайну нано- и микрочастиц с предсказуемой долгосрочной судьбой *in vivo*.

1. Zelepukin IV et al. (2021) Long-Term Fate of Magnetic Particles in Mice: A Comprehensive Study. *ACS Nano* (IF=15.881, Q_{wos} 1, SJR=5.554, Q_{sjr} 1)
2. Mirkasymov AB et al. (2021) In vivo blockade of mononuclear phagocyte system with solid nanoparticles: Efficiency and affecting factors. *J Control Release* (IF=9.776, Q_{wos} 1, SJR=2.119, Q_{sjr} 1)





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

ИФ 107,9

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

ИФ 78,3

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

ИФ 62,7

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

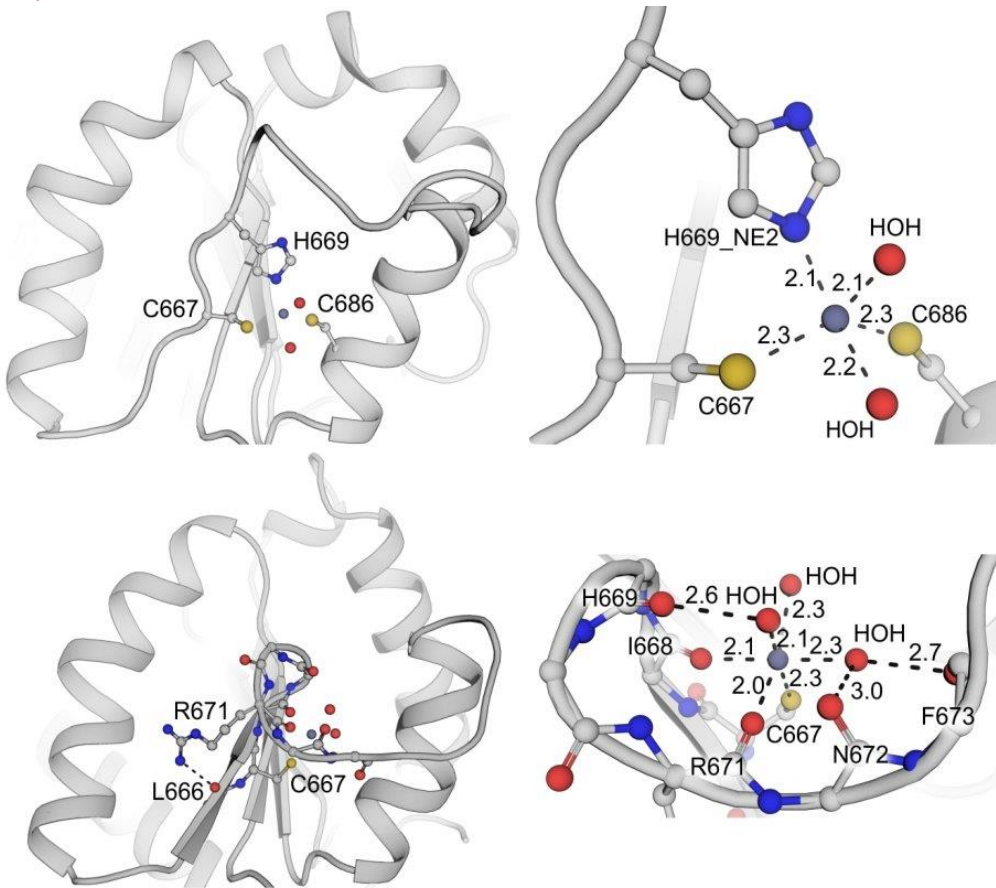
ИФ 78,1

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

ИФ 40,1

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

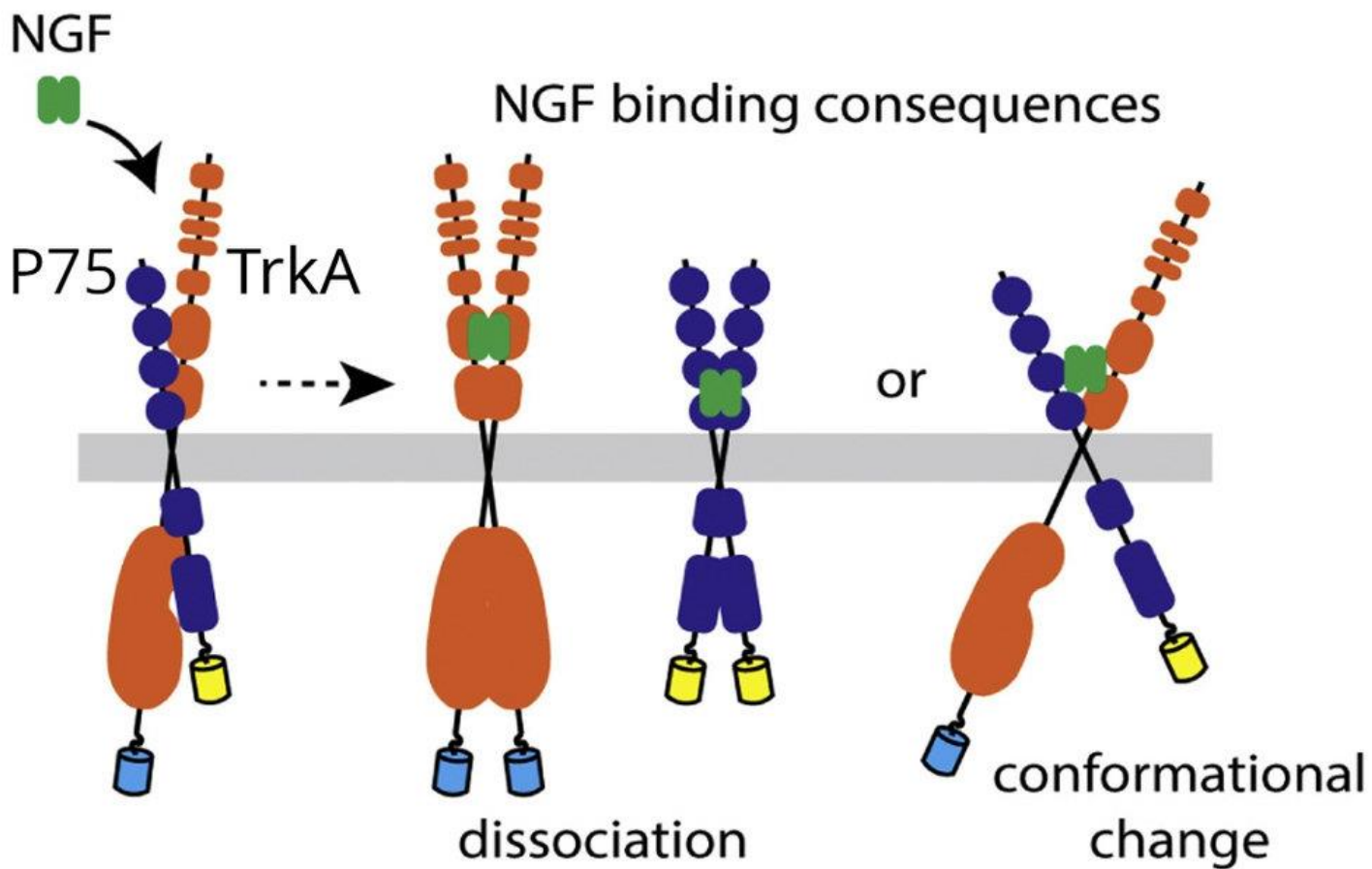
ВЫЯВЛЕНА ВАЖНАЯ РОЛЬ ЦИНКА В РАБОТЕ РЕЦЕПТОРА TLR1



Lushpa VA et al. (2021) Modulation of Toll-like receptor 1 intracellular domain structure and activity by Zn²⁺ ions. *Commun Biol* (IF=6.268, Q_{wos}1, SJR=2.812, Q_{sjr}1)

Толл-подобные рецепторы являются ключевыми участниками врожденного иммунитета. Несмотря на большое количество исследований и данных об этих белках, структурно-функциональные основы их работы до сих пор не до конца ясны. Было проведено комплексное исследование структуры TIR домена TLR1. Для этого пространственная структура домена была определена двумя методами - ЯМР-спектроскопии в растворе и рентгеноструктурного анализа в кристаллах. Сравнение структур выявило отличие в области, содержащей два остатка цистеина, что навело на мысль о существовании возможного взаимодействия домена рецептора с ионами цинка. Для проверки этой гипотезы была проведена серия экспериментов по изучению связывания TIR домена с ионами различных металлов, содержащихся в цитоплазме клетки.

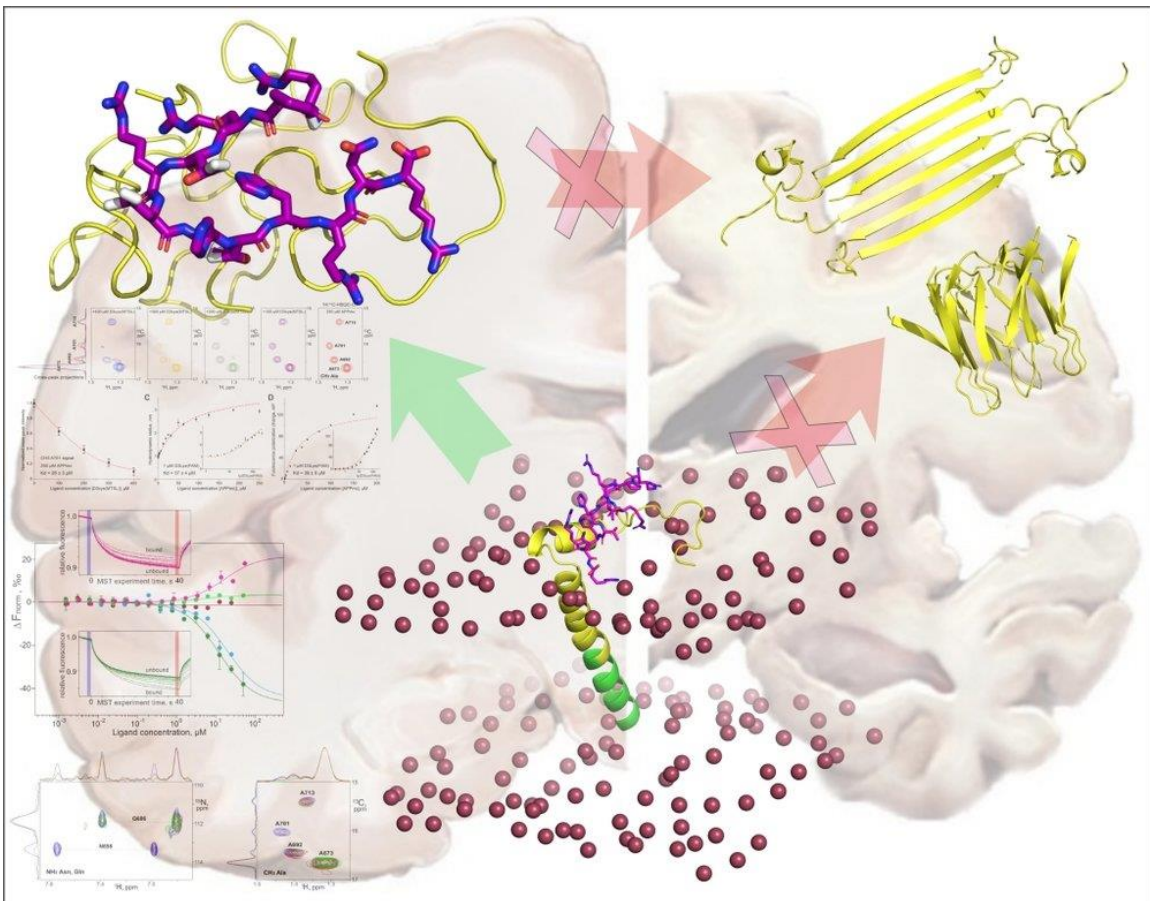
- ❑ Выяснилось, что именно цинк связывается с TIR доменом специфически в наномолярных концентрациях.
- ❑ Оказалось, что происходит образование двух конкурирующих комплексов TLR1/Zn.
- ❑ С использованием подходов на основе точечного мутагенеза белка и компьютерного моделирования удалось обнаружить ключевые остатки, участвующие во взаимодействии.
- ❑ Компьютерный эксперимент показал, что цинк может стабилизировать важный участок TIR домена в двух различных состояниях.
- ❑ Чтобы понять, насколько обнаруженное взаимодействие белка с цинком важно для работы рецептора, была изучена активность TLR1 в живых клетках. Оказалось, что изменение концентрации цинка влияет на активность TLR1, а мутация ключевого остатка цистеина приводит к полной потере активности рецептора.



Нейротрофины и их рецепторы участвуют в большом количестве жизненно важных процессов в нейронах. Каскады запускаемых ими реакций влияют на пролиферацию, дифференциацию, нейропластичность, программируемую смерть клетки и др. Такое большое разнообразие биологических ответов сложно объяснить наличием всего 4 рецепторов и 4 лигандов. Предполагается, что широкий спектр событий может объясняться за счет взаимодействия рецепторов нейротрофинов между собой.

- ❑ В рамках работы по изучению нейротрофиновых рецепторов TrkA и P75 было обнаружено взаимодействие между трансмембранными доменами этих белков и описаны интерфейсы гетеродимеризации.
- ❑ Кроме того, было показано, что константы гомо- и гетеродимеризации рецепторов сравнимы между собой, что говорит в пользу гипотезы о прямом взаимодействии рецепторов в клетке.

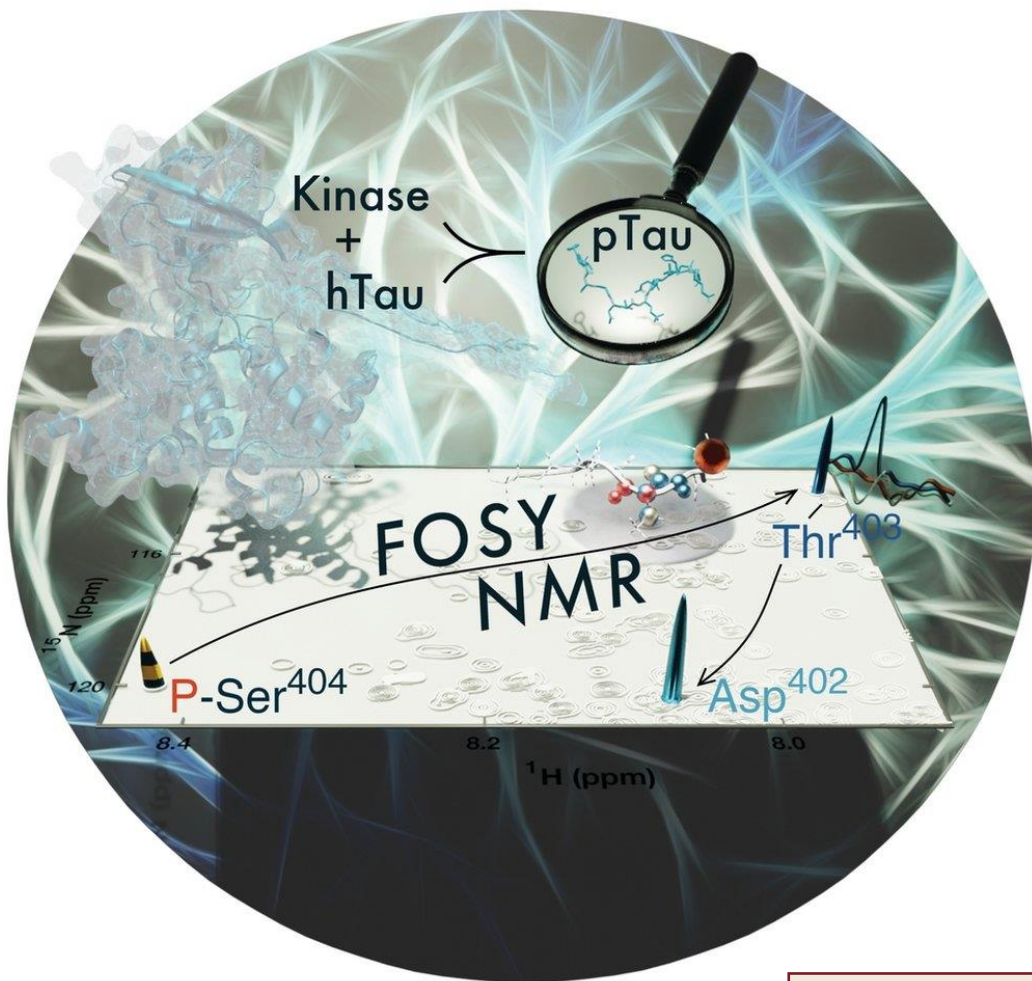
Franco ML et al. (2021) Interaction between the transmembrane domains of neurotrophin receptors p75 and TrkA mediates their reciprocal activation. *J Biol Chem* (IF=5.157, Q_{wos} 2, SJR=2.361, Q_{sjr} 1)



Lesovoy DM et al. (2021) Unambiguous tracking of protein phosphorylation by fast high-resolution FOSY NMR. *Angew Chem Int Ed Engl* (IF=15.336, Q_{wos} 1, SJR=5.831, Q_{sjr} 1)

При исследовании белков, как правило, основной интерес представляют «hotspots» - их функционально-активные участки, которые ответственны за ключевые процессы в каскаде биологических реакций. Метод ЯМР-спектроскопии позволяет на атомном уровне взглянуть на эти процессы, однако, классические подходы неизменно включают стадию полного отнесения сигналов белка, что ресурсозатратно как в плане приборного, так и рабочего времени. Это зачастую является «узким местом» в драг-дизайн и существенным сдерживающим фактором для выполнения проекта в кратчайшие сроки.

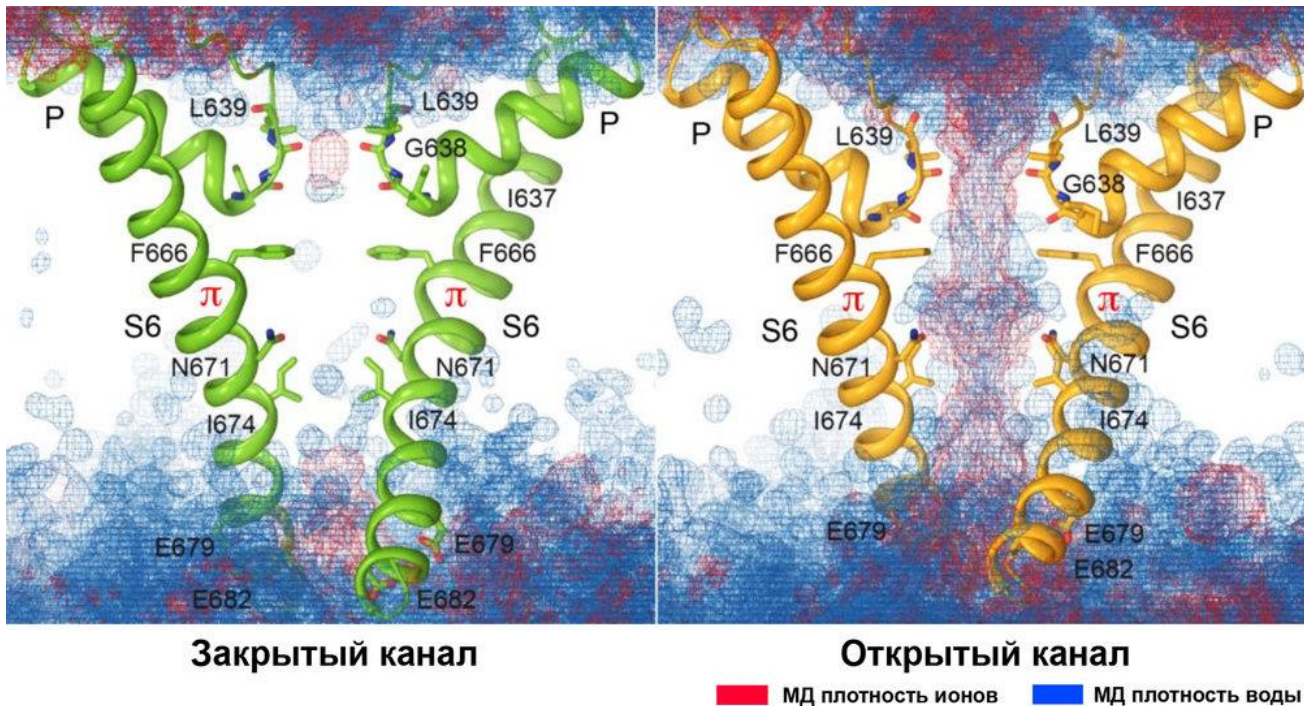
- ❑ Разработанная методика FOSY (FOcused SpectroscopY) позволяет преодолеть данные ограничения, проводя отнесение сигналов интересующего участка в течение нескольких часов без последующего трудозатратного анализа полученных спектров.
- ❑ Апробация данного подхода была успешно проведена на Tau-белке (441 а.о.), для которого ранее не удавалось получить полного и достоверного отнесения сигналов, необходимого для обнаружения его функционально-активных сайтов посттрансляционных модификаций.
- ❑ Применение методики FOSY позволило достоверно определить два ключевых сайта фосфорилирования. А как известно, избыточное фосфорилирование Tau-белка при болезни Альцгеймера и Паркинсона приводит к образованию нейрофибриллярных клубков и патологиям стабилизации аксональных микротрубочек.



При исследовании белков, как правило, основной интерес представляют «hotspots» - их функционально-активные участки, которые ответственны за ключевые процессы в каскаде биологических реакций. Метод ЯМР-спектроскопии позволяет на атомном уровне взглянуть на эти процессы, однако, классические подходы неизменно включают стадию полного отнесения сигналов белка, что ресурсозатратно как в плане приборного, так и рабочего времени. Это зачастую является «узким местом» в драг-дизайн и существенным сдерживающим фактором для выполнения проекта в кратчайшие сроки.

- ❑ Разработанная методика FOSY (FOcused SpectroscopY) позволяет преодолеть данные ограничения, проводя отнесение сигналов интересующего участка в течение нескольких часов без последующего трудозатратного анализа полученных спектров.
- ❑ Апробация данного подхода была успешно проведена на Тау-белке (441 а.о.), для которого ранее не удавалось получить полного и достоверного отнесения сигналов, необходимого для обнаружения его функционально-активных сайтов посттрансляционных модификаций.
- ❑ Применения методики FOSY позволило достоверно определить два ключевых сайта фосфорилирования. А как известно, избыточное фосфорилирование Тау-белка при болезни Альцгеймера и Паркинсона приводит к образованию нейрофибриллярных клубков и патологиям стабилизации аксональных микротрубочек.

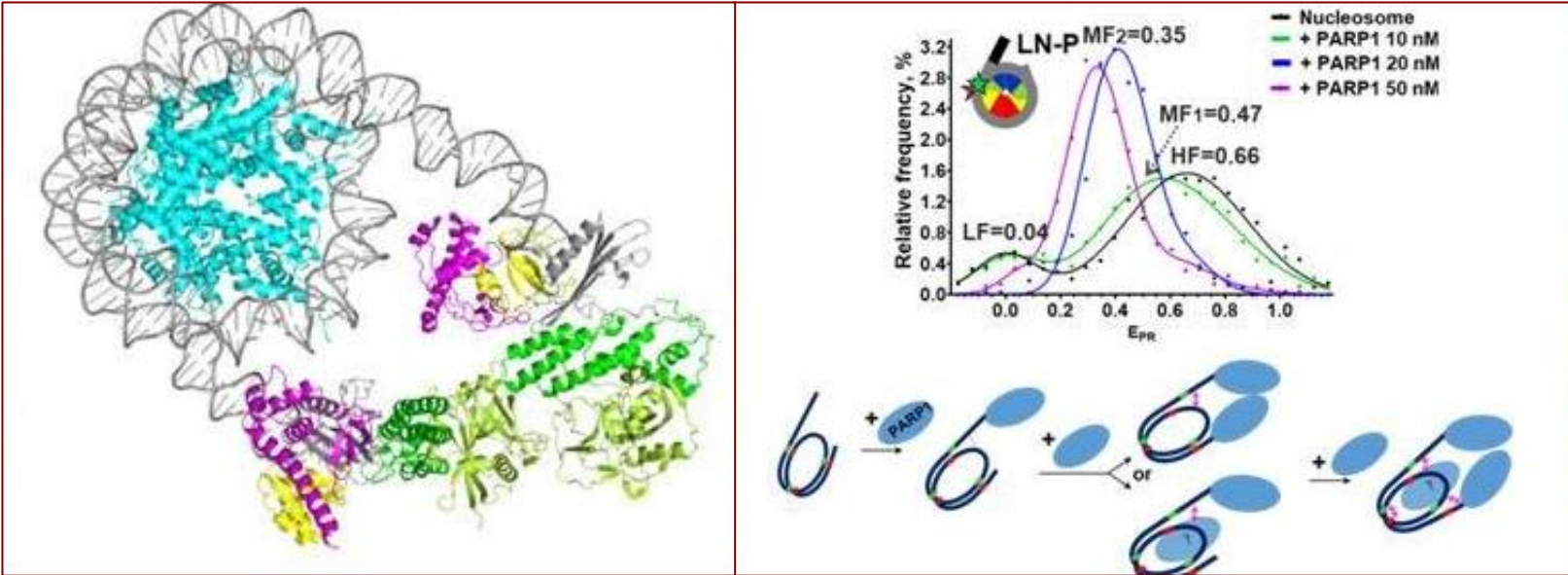
Lesovoy DM et al. (2021) Unambiguous tracking of protein phosphorylation by fast high-resolution FOSY NMR. *Angew Chem Int Ed Engl* (IF=15.336, Q_{wos} -1, SJR=5.831, Q_{sjr} -1)



Ионный канал TRPV3 — один из представителей ванилоидного подсемейства термочувствительных каналов TRP (термо-TRP), экспрессирующийся преимущественно в клетках кожи (кератиноцитах). TRPV3 участвует в работе систем организма ответственных за кожную чувствительность, включая чувствительность к повышенным температурам (>31-39°C) и зуду, ноцицепцию (болевою чувствительность), поддержание кожного барьера, заживление ран, рост волос, эмбриональное развитие.

- ❑ Коллегами из Колумбийского университета (США) методом криоэлектронной микроскопии получены атомарные структуры белка в трех состояниях: закрытом, сенситизированном (переходном) и, впервые, - открытом при помощи температуры.
- ❑ На основании структурных данных был предложен механизм термоактивации канала, который сопровождается т.н. «конформационной волной» перестройки полипептидной цепи белка и его липидного окружения.
- ❑ Моделирование молекулярной динамики (МД) позволило охарактеризовать проводимость ионов и молекул воды через пору TRPV3 в различных состояниях и проследить за динамикой ключевого липида в т.н. «ванилоидном кармане».
- ❑ Эти липиды, по-видимому, играют роль своеобразных «плавких предохранителей», регулирующих перестройки белка в ответ на изменение температуры.

Nadezhdin KD et al. (2021) Structural mechanism of heat-induced opening of a temperature-sensitive TRP channel. *Nat Struct Mol Biol* (IF=15.369, Q_{wos} 1, SJR=9.448, Q_{sjr} 1)



В сотрудничестве с учеными из МГУ им. М.В. Ломоносова, Монреальского университета (Канада), Центрального научно-исследовательского института лекарственных средств (Индия) и Онкологического центра Фокс Чейз (США).

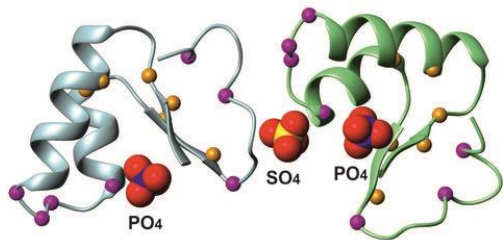
1. Maluchenko NV et al. (2021) Mechanisms of nucleosome reorganization by PARP1. *Int J Mol Sci* (IF=5.924, Q_{wos} 1, SJR=1.455, Q_{sjr} 1)
2. Maluchenko NV et al. (2021) PARP-1-Associated Pathological Processes: Inhibition by Natural Polyphenols. *Int J Mol Sci* (IF=5.924, Q_{wos} 1, SJR=1.455, Q_{sjr} 1)
3. Sultanov DC et al. (2017) Unfolding of core nucleosomes by PARP-1 revealed by spFRET microscopy. *AIMS Genet* (IF=, Q_{wos} , SJR=, Q_{sjr})

PARP1 - это фермент, участвующий в репарации ДНК, организации хроматина и транскрипции.

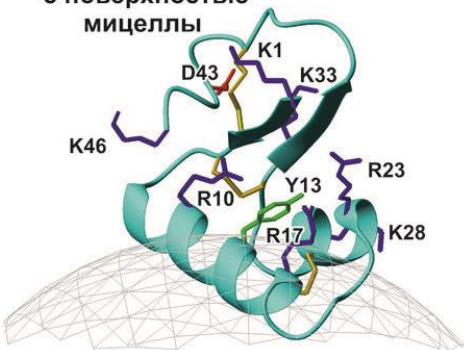
- ❑ С помощью микроскопии spFRET, молекулярной динамики и биохимических подходов было идентифицировано несколько различных комплексов PARP 1-нуклеосома и два типа связывания PARP1 с нуклеосомами.
- ❑ Было обнаружено, что две или три молекулы PARP1 связываются с нуклеосомой в зависимости от наличия линкерной ДНК и индуцируют реорганизацию всей нуклеосома независимо от каталитической активности PARP1.
- ❑ Полученные данные свидетельствуют, что PARP 1 может индуцировать образование альтернативного состояния нуклеосома, которое, вероятно, участвует в регуляции генов и репарации ДНК.

НАБЛЮДЕНИЕ ОЛИГОМЕРИЗАЦИИ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА ВИСКТОКСИНА А3 В МИЦЕЛЛАХ ДЕТЕРГЕНТОВ ПОЗВОЛИЛО ПРЕДЛОЖИТЬ МЕХАНИЗМ ФОРМИРОВАНИЯ ИОННЫХ КАНАЛОВ И ЛИЗИСА МЕМБРАНЫ

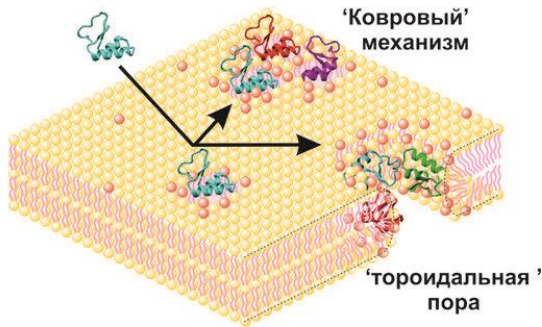
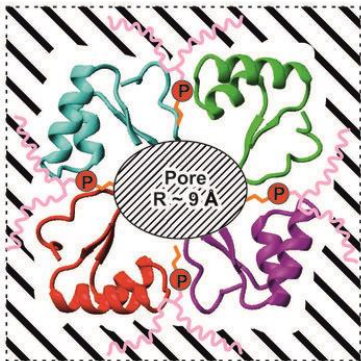
Межмолекулярные контакты в кристалле



Взаимодействие с поверхностью мицеллы



Вид на плоскость мембраны

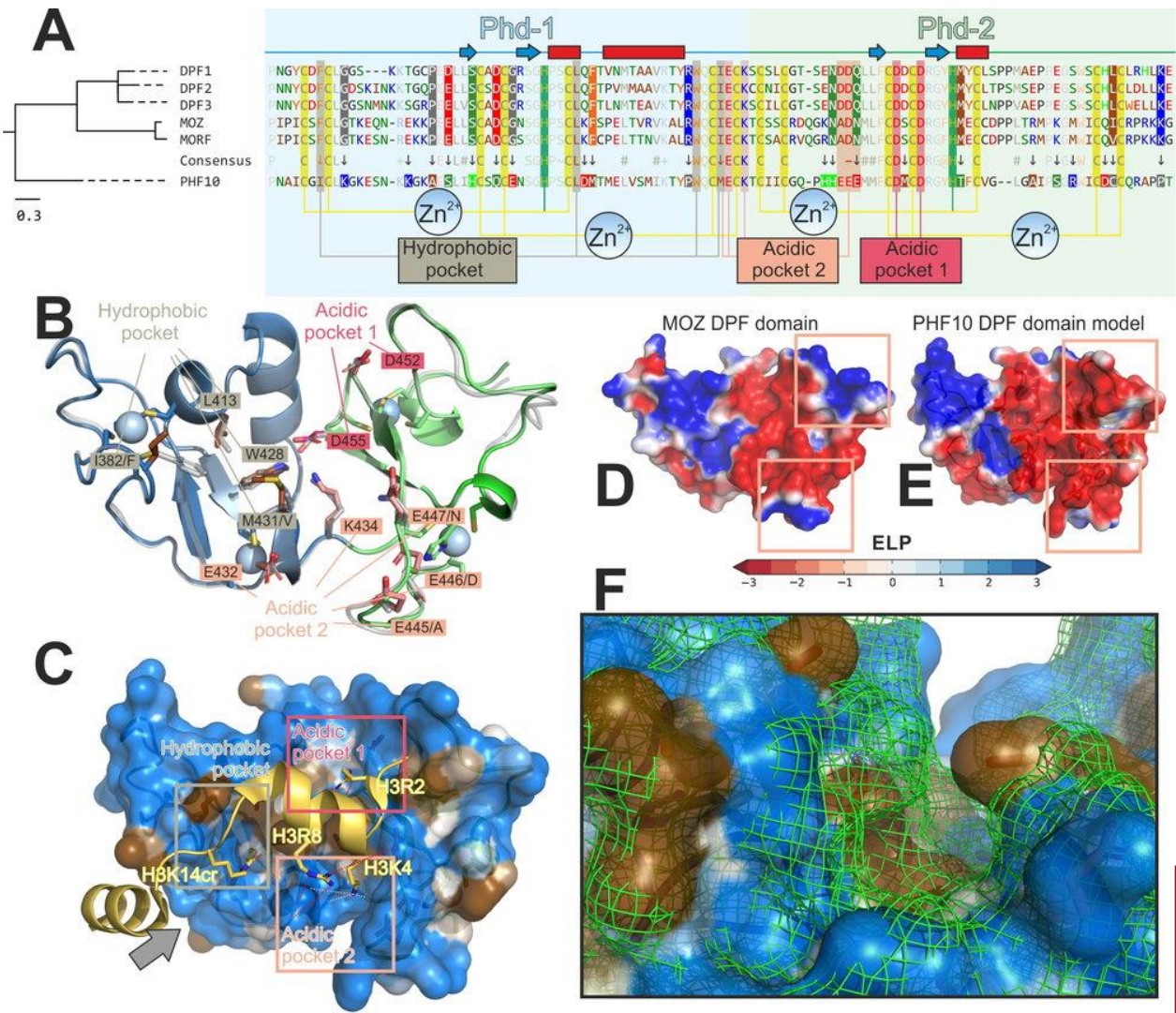


Paramonov AS et al. (2021) Spatial structure and oligomerization of viscotoxin A3 in detergent micelles: Implication for mechanisms of ion channel formation and membrane lysis. *Biochem Biophys Res Commun* (IF=3.575, Q_{wos} 2, SJR=0.998, Q_{sjr} 1)

С помощью спектроскопии ЯМР была исследована структура вискотоксина А3 (VtA3) в мембраномоделирующих средах — мицеллах детергентов. Вискотоксин А3 относится к семейству тионинов — небольших (~5 кДа) катионных пептидов, участвующих в процессах иммунного ответа у растений. Этот пептид выделен из полупаразитического растения омелы белой (*Viscum album*), являющейся традиционным рождественским украшением в Англии.

- ❑ Для VtA3 показана антимикробная и цитотоксическая активность против раковых клеток, а также способность связываться с мембранами, содержащими анионные липиды, и формировать ионные каналы.
- ❑ Пространственная структура VtA3, включающая спиральную шпильку и короткий β -лист, была стабильной и не претерпевала значительных изменений при связывании с мицеллой.
- ❑ Молекула VtA3 с высокой афинностью связывалась с поверхностью мицеллы цвиттерионного додецилфосфохолина (DPC) гидрофобным участком в спиральной шпильке.
- ❑ Олигомеризация VtA3 наблюдалась в анионных мицеллах додецилсульфата натрия (SDS).
- ❑ Прямых контактов между молекулами пептидов не наблюдалось, однако полученные данные позволили предположить, что мембранная активность VtA3, в зависимости от концентрации, соответствует модели «тороидальной поры», либо «ковровому» механизму.
- ❑ Предложена модель комплекса, разрушающего мембрану, объясняющая образование ионных каналов в частично анионных мембранах.

ПРЕДСКАЗАНА СПЕЦИФИЧНОСТЬ К МОДИФИКАЦИЯМ ГИСТОНОВ БЕЛКА PHF10 — СУБЪЕДИНИЦЫ ХРОМАТИН-РЕМОДЕЛИРУЮЩЕГО КОМПЛЕКСА PBAF

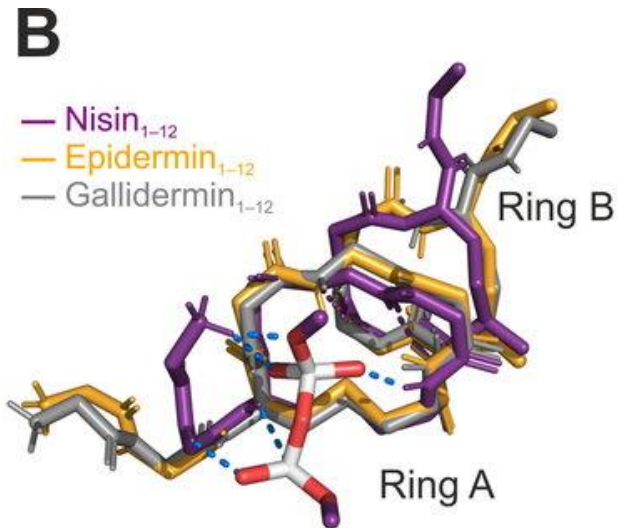
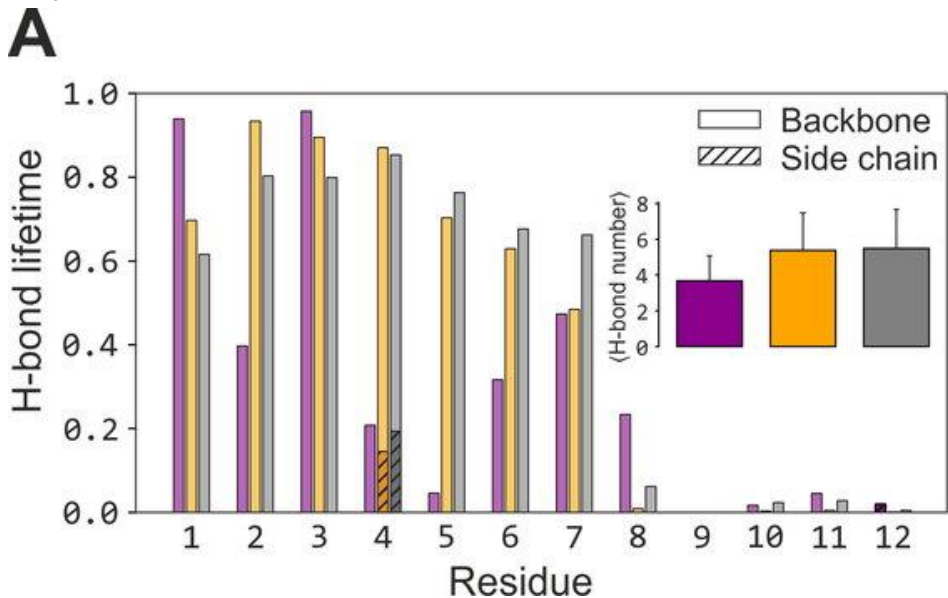


В то время как наследственность в целом определяется последовательностью нуклеотидов в ДНК, конкретная реализация генетической информации в каждом типе клеток и в каждой отдельно взятой клетке — результат действия сложнейших эпигенетических механизмов, основанных на управлении экспрессией генов в зависимости от контекста, создаваемого на данном участке ДНК хроматином.

Один из эпигенетических механизмов — система химической модификации гистонов, «помечающая» хроматин как активный или неактивный, с множеством нюансов, до конца еще не понятых исследователями. Обработкой и ремоделированием хроматина занимаются сложные белковые комплексы, отдельные субъединицы которых служат «системой наведения», распознающей те или иные типы хроматиновых модификаций.

В этой работе, выполненной в кооперации с Институтом биологии гена, построена пространственная модель одной из таких «наводящих» субъединиц — белка PHF10 из комплекса PBAF; и проведен подробный структурный анализ «карманов», за счет которых он распознает модификации гистонов H3 и H4.

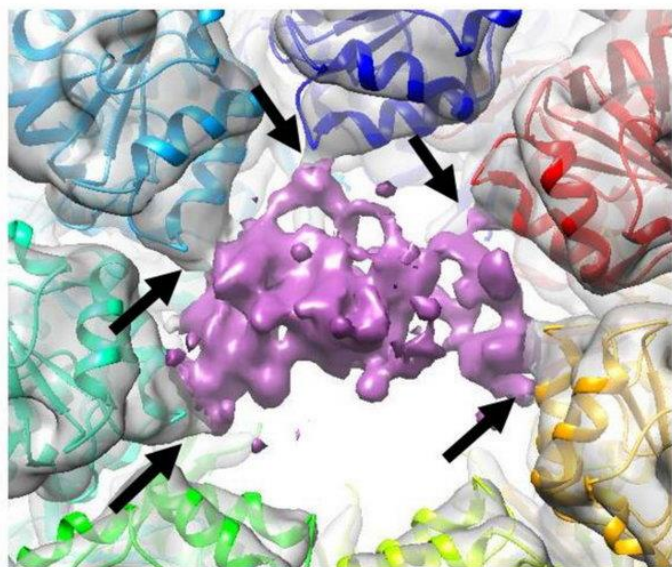
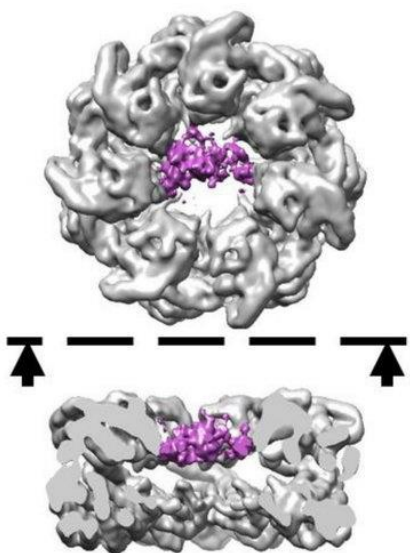
Chugunov AO et al. (2021) Conserved structure and evolution of dpf domain of phf10—the specific subunit of pbaF chromatin remodeling complex. *Int J Mol Sci* (IF=5.924, Q_{wos} 1, SJR=1.455, Q_{sjr} 1)



Panina I et al. (2021) Molecular dynamics insight into the lipid II recognition by type A lantibiotics: Nisin, epidermin, and gallidermin. *Micromachines (Basel)* (IF=2.891, Q_{wos}2, SJR=0.575, Q_{sjr}2).

Низин — один из самых интересных антимикробных пептидов (АМП), избирательно действующий на молекулу липида II в мембране бактерий, тормозя синтез клеточной стенки и напрямую уничтожая мембрану. Хотя сам по себе он не может быть лекарством (из-за плохой фармакокинетики и давнего применения в качестве консерванта), механизм распознавания этим АМП своей мишени называют перспективным для разработки новых антибиотиков, не подверженных быстрому появлению резистентности у микроорганизмов.

- ❑ В [предшествующем исследовании](#) с помощью молекулярного моделирования мы расшифровали этот механизм: это система направленных в единый центр доноров водородной связи от полициклического каркаса низина, «захватывающая» пирофосфатную группировку — принципиальную структурную детерминанту липида II.
- ❑ В этой работе мы показали, что близкие к низину пептиды — эпидермин и галлидермин — работают примерно так же, несколько превосходя низин по связывающей способности. Также мы *in silico* предложили мутантный вариант низина, обладающий улучшенным связыванием с мишенью, заложив базу для теоретического дизайна новых антибиотиков с описанным механизмом действия.



1. Mamchur AA et al. (2021) Structural and Computational Study of the GroEL–Prion Protein Complex. *Biomedicines* (IF=6.081, Q_{wos} 1, SJR=1.511, Q_{sjr} 1)
2. Panina IS et al. (2021) Study of GroEL Conformational Mobility by Cryo-Electron Microscopy and Molecular Dynamics. *Cryst. Rep* (IF=0.735, Q_{wos} 4, SJR=0.294, Q_{sjr} 3)

Шапероны — это белки, которые ускоряют фолдинг других белков и предотвращают губительную для клетки агрегацию «неправильно» сложенных белков, помогая им принимать правильную пространственную структуру. Однако из этого правила есть исключение — полагают, что взаимодействие молекулярного шаперона GroEL с нормальной изоформой прионного белка PrPc может приводить к ее трансформации в патогенную, предрасположенную к агрегации форму PrPsc.

- ❑ Совмещая методы криоэлектронной микроскопии (крио-ЭМ) и молекулярного моделирования, нам удалось впервые установить молекулярные основы взаимодействия GroEL–PrP. Известно, что в сворачивании белка-субстрата участвуют С-концевые фрагменты субъединиц GroEL, о которых, ввиду их неупорядоченной организации, очень мало структурной информации.
- ❑ Перед началом изучения механизма сворачивания белков в полости GroEL, мы получили с помощью крио-ЭМ 3D структуру апо-формы GroEL, дополнив ее теоретическими расчетами относительно положения С-концевых фрагментов.
- ❑ Далее, мы показали, что PrP асимметрично связывается с несколькими субъединицами GroEL на уровне их апикальных доменов. Согласно моделированию, любой из двух доменов PrP потенциально может формировать контакты с GroEL, однако неупорядоченный N-домен PrP образует энергетически более выгодный комплекс с GroEL, чем его С-домен.
- ❑ При погружении в полость GroEL структурированного С-домена PrP, он частично теряет свою вторичную структуру в ходе моделирования МД, тогда как неупорядоченный N-домен, напротив, содержал большее количество элементов вторичной структуры, по сравнению с N-доменом в воде.



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





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

ИФ 18,5

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

ИФ 18,5

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

ИФ 24,1

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

ИФ 76,9

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

ИФ 18,5

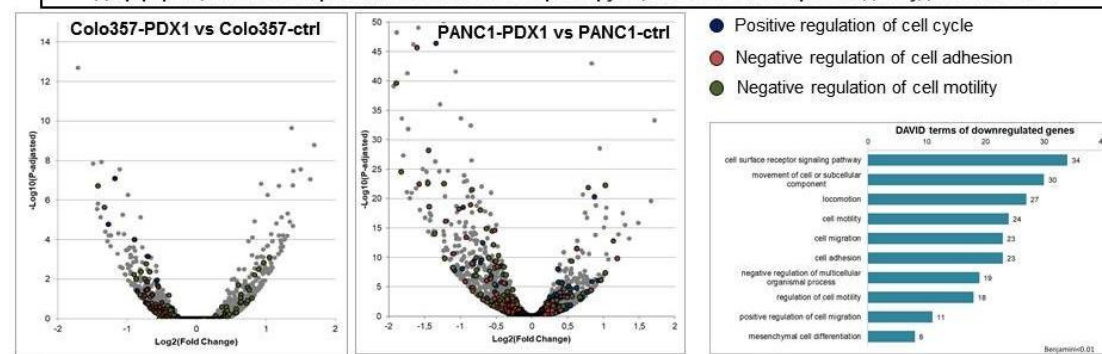
- **Группа генной иммуноонкотерапии**
И.В. Алексеенко

РЕГУЛЯТОР ЭМБРИОГЕНЕЗА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ PDX1 УВЕЛИЧИВАЕТ АДГЕЗИЮ И СНИЖАЕТ ПОДВИЖНОСТЬ РАКОВЫХ КЛЕТОК

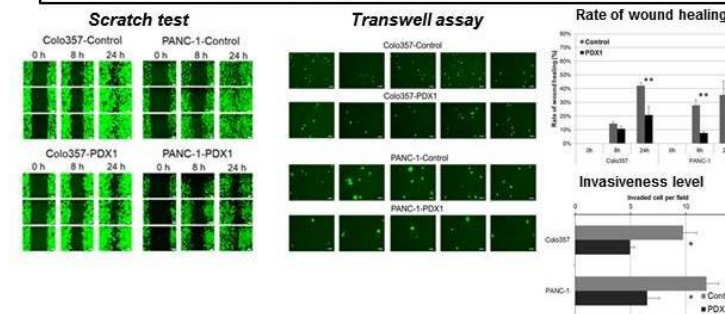
Возможным способом подавления миграции опухолевых клеток может быть усиление адгезии между опухолевыми и стромальными клетками в первичных солидных опухолях. Ранее мы обнаружили, что эктопическая экспрессия эмбрионального регулятора поджелудочной железы PDX1 снижает *in vitro* и *in vivo* потенциал миграции раковых клеток поджелудочной железы.

- В новом исследовании мы показали, что это происходит за счет увеличения их адгезивности и снижения чувствительности к TGFβ1-индуцированному эпителиально-мезенхимальному переходу. Был проведен транскриптомный анализ клеток двух линий рака поджелудочной железы PANC1 и Colo357 с эктопической экспрессией гена PDX1. Используя РНК-секвенирование (RNA-seq) мы впервые описали транскриптомный профиль линии Colo357.
- Были выявлены дифференциально экспрессирующиеся гены и функциональные категории генов в клетках линий рака поджелудочной железы при эктопической экспрессии гена PDX1. Анализ генов с пониженным уровнем экспрессии показал обогащение категориями генов, связанными с клеточной подвижностью, адгезией, мезенхимальной дифференцировкой, сигналингами от рецепторов на поверхности клеток. Гены с увеличенным уровнем экспрессии были обнаружены в генных категориях, связанных с регуляцией транскрипции и клеточного цикла.
- Данные транскриптомного анализа подтвердили обнаруженный *in vitro* и *in vivo* эффект эктопической экспрессии гена PDX1 в клетках линий PANC1 и Colo357.
- Результаты анализа направленной и ненаправленной миграции клеток и результаты, полученные на организменной модели метастазирования (на эмбрионах *Danio rerio*), показали снижение миграционного потенциала клеток PANC1 и Colo357, экспрессирующих ген PDX1.
- Нами было продемонстрировано увеличение адгезивности раковых клеток, экспрессирующих PDX1, к белкам внеклеточного матрикса коллагену I типа и фибронектину, а также к полилизину, и показано, что эктопическая экспрессия PDX1 также снижает чувствительность клеток к TGFβ1.
- Полученные результаты дают дополнительные аргументы PDX1 как потенциальному антиметастатическому агенту.

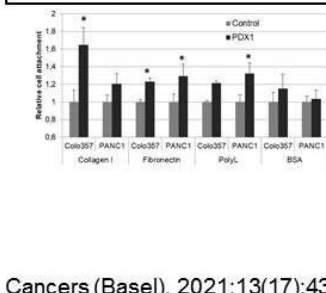
Дифференциальная экспрессия генов в PDX1-экспрессирующих клетках линий рака поджелудочной железы



Снижение способности клеток рака поджелудочной железы Colo357 и PANC1 к миграции при экспрессии в них гена PDX1



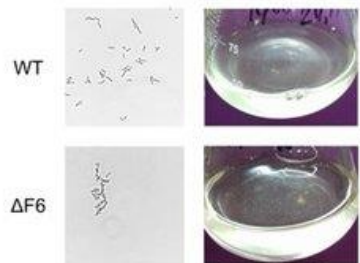
Увеличение адгезивности клеток Colo357 и PANC1 при экспрессии в них гена PDX1



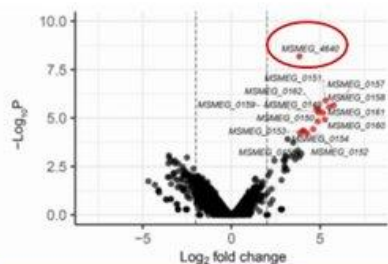
Cancers (Basel). 2021;13(17):4390.

1. Kondratyeva L et al. (2021) Pancreatic Lineage Specifier PDX1 Increases Adhesion and Decreases Motility of Cancer Cells. **Cancers (Basel)** (IF=6.639, Q_{wos} 1, SJR=1.818, Q_{sjr} 1)
2. Kondratyeva LG et al. (2019) PDX1, a key factor in pancreatic embryogenesis, can exhibit antimetastatic activity in pancreatic ductal adenocarcinoma. **Cancer Manag Res** (IF=3.989, Q_{wos} 3, SJR=1.024, Q_{sjr} 2)

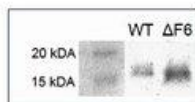
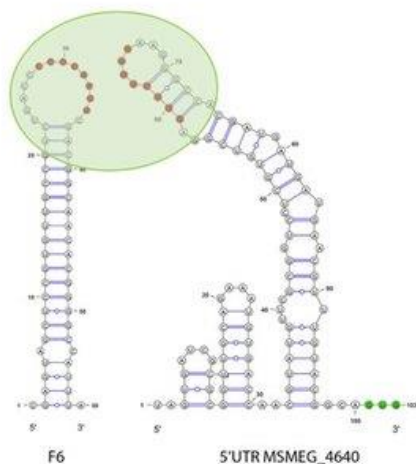
МАЛАЯ НЕКОДИРУЮЩАЯ РНК F6 КОНТРОЛИРУЕТ ПРОЦЕСС ПЕРЕХОДА МИКОБАКТЕРИЙ В ПОКОЯЩЕЕСЯ СОСТОЯНИЕ



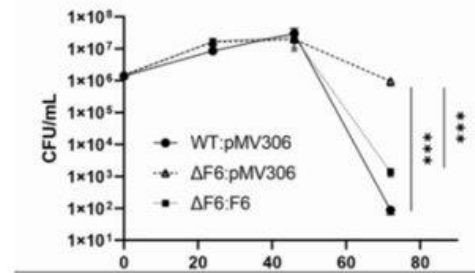
Штамм *M. smegmatis* ΔF6 проявляет повышенную склонность к агрегации



Делеция гена малой РНК F6 влияет на экспрессию генов



Молекулярной мишенью F6 является 5' UTR мРНК фактора ресuscитации RpfE2 (MSMEG_4640).
Взаимодействие приводит к ингибированию синтеза белка RpfE2

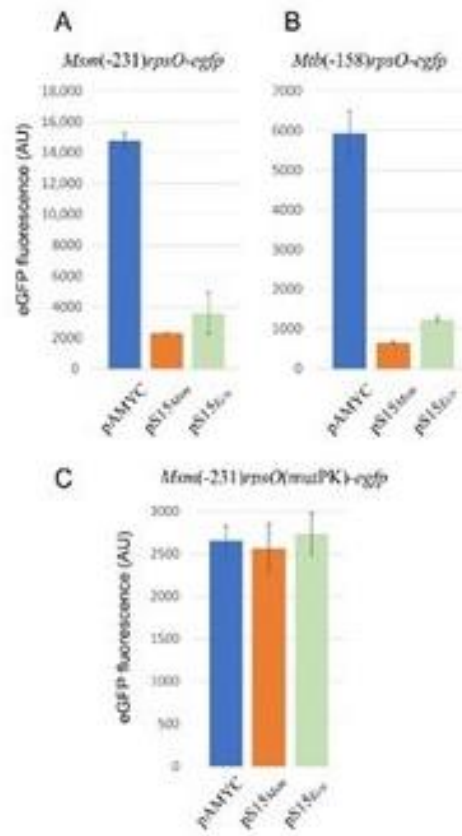
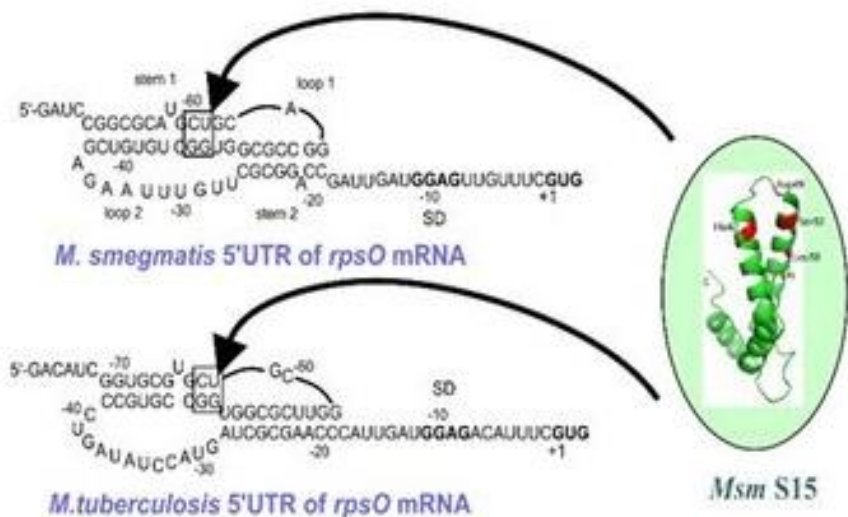


F6 контролирует переход *Mycobacterium smegmatis* в состояние покоя в результате моделирования клеточной стенки

Малая некодирующая РНК F6 присутствует в геномах всех микобактерий.

- На модельном объекте *Mycobacterium smegmatis* мы показали, что F6 контролирует процесс перехода бактерии в покое состояние.
- Делеция F6 приводит к повышению экспрессии генов, вовлеченных в ответ на окислительный стресс, а также гена фактора ресuscитации RpfE2.
- Непосредственное взаимодействие F6 с мРНК гена rpfE2 подавляет синтез белка RpfE2, участвующего в гидролизе бактериальных пептидогликанов, что приводит к существенному снижению способности микобактерий переходить в состояние метаболического покоя.

1. Grigorov A et al. (2021) Small RNA F6 Provides *Mycobacterium smegmatis* Entry into Dormancy. *Int J Mol Sci* (IF=5.924, Q_{wos} 1, SJR=1.455, Q_{sjr} 1)
2. Ostrik AA et al. (2021) Small Noncoding RNAs and Their Role in the Pathogenesis of *Mycobacterium tuberculosis* Infection. *Biochemistry (Mosc)* (IF=2.487, Q_{wos} 4, SJR=0.747, Q_{sjr} 2)

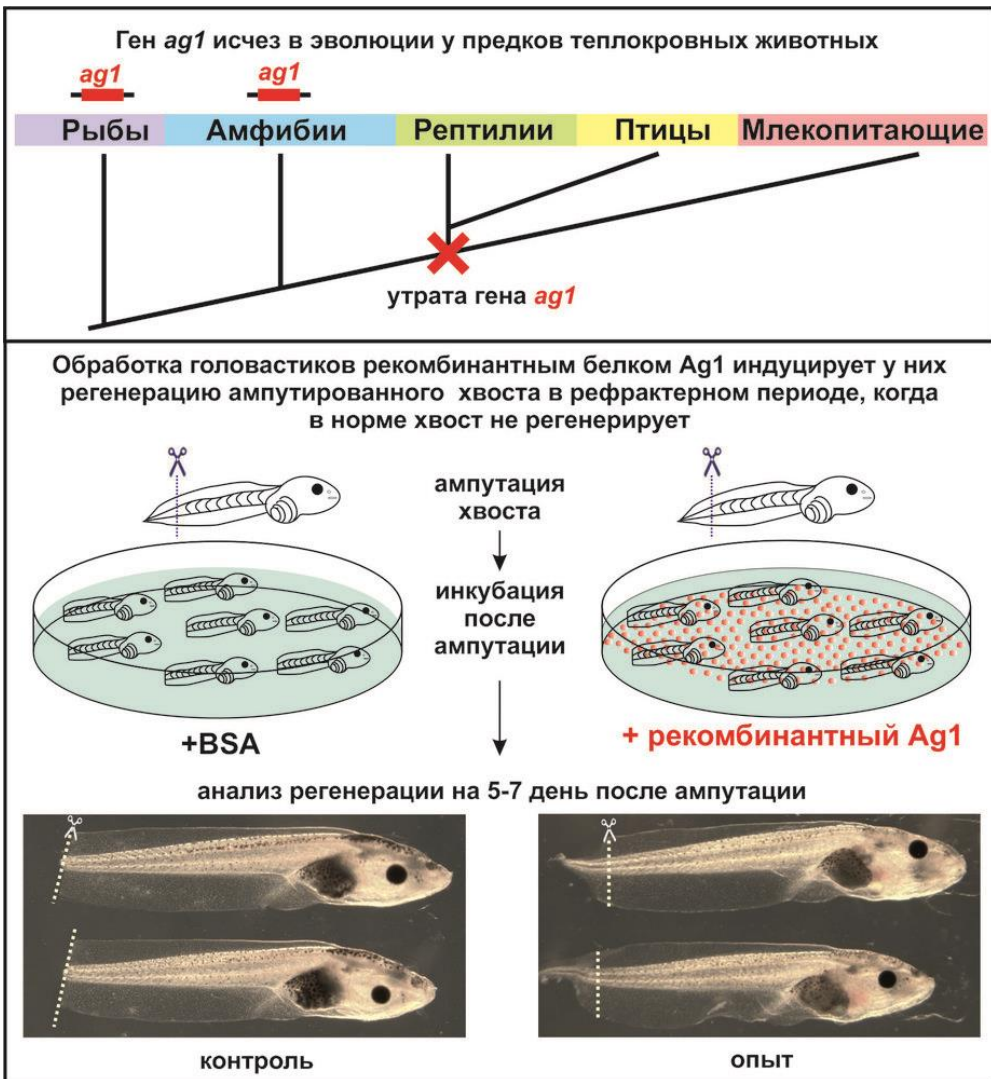


- Впервые исследована *in vivo* регуляция синтеза рибосомных белков у микобактерий *Mycobacterium smegmatis* и *Mycobacterium tuberculosis* на примере гена *rpsO*, кодирующего белок S15.
- Доказан механизм аутогенной репрессии на уровне инициации трансляции, в основе которого лежит связывание белком S15 регуляторной области на своей мРНК, формирующей структуру типа «псевдоузел», что указывает на поразительное сходство с механизмом регуляции S15 у *E. coli* несмотря на значительное филогенетическое расстояние между этими организмами.

Белок S15 узнает и связывает структуру типа псевдоузел в 5' нетранслируемой области *rpsO* мРНК *M. smegmatis* и *M. tuberculosis*, ингибируя инициацию трансляции (A, B на рисунке справа). Псевдоузел играет ключевую роль, и его нарушение путем мутагенеза отменяет аутогенный контроль (C на рисунке справа)

Aseev LV et al. (2021) Regulation of Ribosomal Protein Synthesis in Mycobacteria: The Autogenous Control of *rpsO*. *Int J Mol Sci* (IF=5.924, Q_{wos} 1, SJR=1.455, Q_{sjr} 1)

СЕКРЕТИРУЕМАЯ ДИСУЛЬФИД ИЗОМЕРАЗА Ag1, УТРАЧЕННАЯ ПРЕДКАМИ СЛАБО-РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ ПОЗВОНОЧНЫХ, НЕОБХОДИМА ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ ХВОСТА ГОЛОВАСТИКОВ *XENOPUS LAEVIS*



В отличие от холоднокровных позвоночных (рыб, амфибий и пресмыкающихся), теплокровные (птицы и млекопитающие) не способны регенерировать конечности и хвост, в случае их потери.

- ❑ Ранее мы выдвинули гипотезу о связи между ослаблением регенеративных способностей у теплокровных и утратой у них некоторых генов, регулирующих регенерацию у холоднокровных. В поддержку данной гипотезы было показано, что среди немногочисленных генов, утраченных теплокровными позвоночными, действительно есть гены, активирующиеся при регенерации, в частности, ген секретлируемой дисульфид изомеразы Ag1.
- ❑ На модельном объекте - головастиках шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* - мы продемонстрировали, что в хорошем соответствии с гипотезой нокдаун *ag1* снижает способность к регенерации хвоста.
- ❑ При этом добавление рекомбинантного белка Ag1 в среду с головастиками, находящимися в рефрактерном периоде (в это время способность к регенерации хвоста исчезает по естественным причинам), индуцирует регенерацию хвоста.

Ivanova AS et al. (2021) The Secreted Protein Disulfide Isomerase Ag1 Lost by Ancestors of Poorly Regenerating Vertebrates Is Required for *Xenopus laevis* Tail Regeneration. *Front Cell Dev Biol* (IF=6.684, Q_{wos}1, SJR=2.452, Q_{sjr}1)

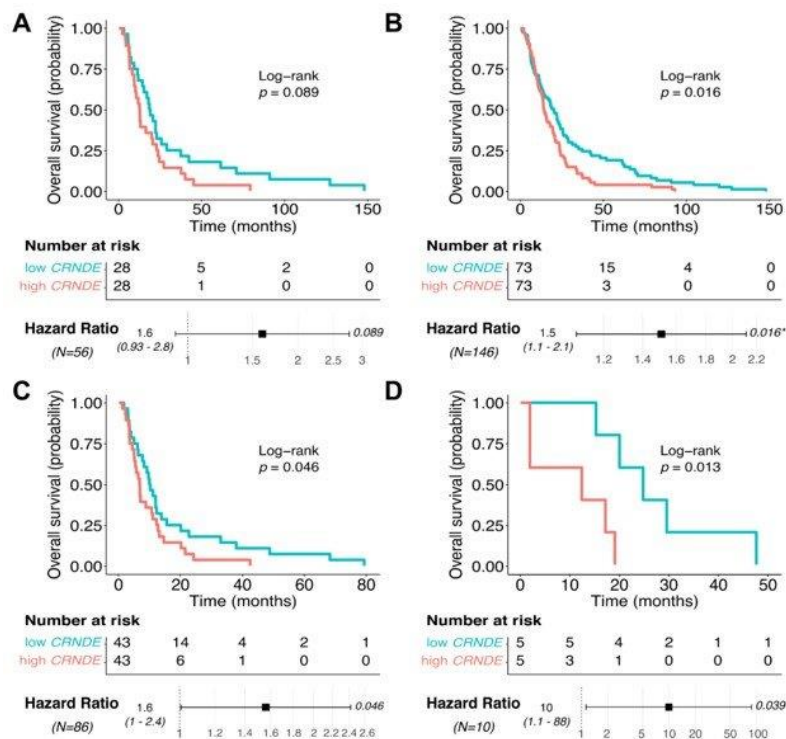


Рис. 1. Показатели общей выживаемости в группах пациентов с глиобластомой с низким (синий) и высоким (красный) уровнем экспрессии некодирующей РНК CRNDE в наборах данных (A) CGGA_325, (B) CGGA_693, (C) TCGA и (D) в экспериментальном наборе пациентов из Словении. Результаты указывают на экспрессию CRNDE как надежный негативный прогностический маркер выживаемости при глиобластоме ($p = 0.013-0.046$ для трех сравнений из четырех; тренд также сохраняется в четвертом сравнении).

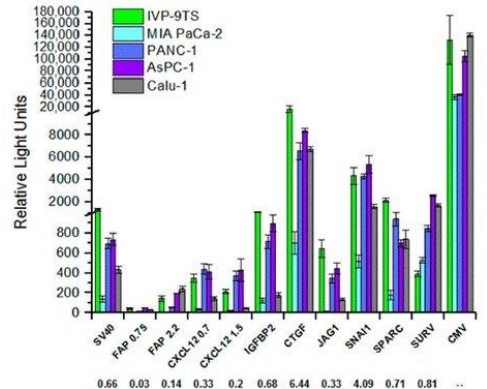
- Проведен системный анализ генов, чья экспрессия связана с прогрессией злокачественного рака мозга (глиобластомы).
- Удалось обнаружить новый высокоэффективный маркер плохого прогноза этого заболевания – уровень экспрессии некодирующей РНК CRNDE, который обратно коррелировал с выживаемостью пациентов. Мутационные маркеры, по-видимому, в значительной мере исчерпали свой потенциал, тогда как маркеры, основанные на уровне экспрессии генов, являются новой «восходящей звездой» молекулярной онкологии. В исследование включили несколько сотен экспрессионных профилей образцов глиобластомы, связанных с информацией о выживаемости пациентов, из нескольких наборов данных, собранных для пациентов из России, США, Евросоюза и Китая. Потенциальные маркеры, обнаруженные при анализе публичных баз данных, валидировали на экспериментальном материале, полученном в рамках сотрудничества с Медицинским факультетом Университета Любляны, (Словения), МФТИ, Сеченовским университетом, Институтом онкологии (Словения), компанией Омиксвей, а также Европейской организации исследования и лечения рака (EORTC). В результате статистической фильтрации данных был обнаружен единственный ген, демонстрирующий высокий биомаркерный потенциал во всех исследованных наборах данных: ген некодирующей РНК CRNDE.

- Результаты исследования свидетельствуют о возможности его включения в клиническую практику наряду с немногочисленными уже существующими биомаркерами глиобластомы: мутациями генов IDH1-2, метилированием промотора гена MGMT и делециями некоторых хромосомных участков.

Sorokin M et al. (2021) Large-Scale Transcriptomics-Driven Approach Revealed Overexpression of CRNDE as a Poor Survival Prognosis Biomarker in Glioblastoma. *Cancers (Basel)* (IF=6.639, $Q_{wos}1$, SJR=1.818, $Q_{sjr}1$)

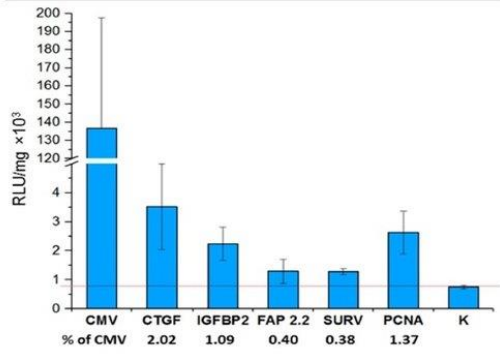
ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ТАРГЕТИНГА ФИБРОБЛАСТОВ ОПУХОЛИ ПРИ ЛОКАЛЬНОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ

Активность промоторов в клеточных линиях человека

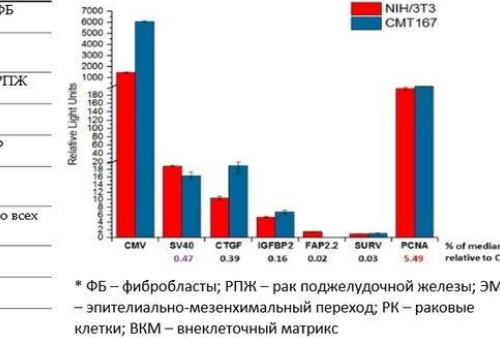


Ген/ промотор	Описание
FAP	Селективный маркер ОАФ и активированных раневых ФБ
CXCL12	Селективно экспрессируется в ОАФ РПЖ* и почти отсутствует в РК
IGFBP2	Потенциальный строма-ассоциированный биомаркер РПЖ
CTGF	Предоминантно экспрессирован ФБ стромы
JAG1	Лиганд сигнального пути Notch активированного в ОАФ
SNAI1	Транскрипционный фактор ЭМП, экспрессируется в основном в ядрах стромальных клеток, а не РК
SPARC	Белок ремоделирования ВКМ при РПЖ, присутствует во всех клетках опухоли, но его уровень в ОАФ выше
CMV	Сильный конститутивный вирусный промотор
SV40	Слабый конститутивный вирусный промотор
PCNA	Универсальный промотор клеток млекопитающих

Профили активности промоторов в составе конструкций при внутриопухолевом введении



Активность промоторов в раковых и фибробластных клеточных линиях мыши



* ФБ – фибробласты; РПЖ – рак поджелудочной железы; ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход; РК – раковые клетки; ВКМ – внеклеточный матрикс

Использование селективных промоторов в составе противоопухолевых генотерапевтических препаратов способно снижать системную токсичность терапии. Клетки микроокружения опухоли, представленные в основном опухоль-ассоциированными фибробластами (ОАФ), могут выступать мишенью для противоопухолевой генной терапии. Однако малоизвестно, какие промоторы могут быть использованы для контроля экспрессии терапевтических генов в ОАФ.

- ❑ Мы предположили, что промоторы генов с повышенной экспрессией в ОАФ могут обеспечивать селективность экспрессии трансгена в ОАФ. Было выбран ряд ОАФ-специфичных генов.
- ❑ Активность экспрессии трансгенов, находящихся под контролем промоторов ОАФ-специфичных генов и конститутивных промоторов, была изучена в экспериментах *in vitro* на раковых и стромальных клетках человека и мыши, а также в опухолевой модели *in vivo*.
- ❑ Показано, что исследуемые промоторы не различаются по селективности экспрессии трансгена, но отличаются по силе.
- ❑ Показано, что экспрессия трансгена в фибробластах может быть обеспечена на высоком уровне при использовании универсальных промоторов (CMV, SV40, PCNA). Интересно, что профили активности промоторов относительно друг друга сохранялись как в клеточных линиях человека и мыши, так и в клетках опухоли.
- ❑ Полученные нами данные могут быть использованы для рационального дизайна противоопухолевых генотерапевтических препаратов.

1. Alekseenko I et al. (2021) Step-by-Step Immune Activation for Suicide Gene Therapy Reinforcement. *Int J Mol Sci* (IF=5.924, Q_{wos}1, SJR=1.455, Q_{sjr}1)
2. Antonova DV et al. (2021) Possibility for transcriptional targeting of cancer-associated fibroblasts—limitations and opportunities. *Int J Mol Sci* (IF=5.924, Q_{wos}1, SJR=1.455, Q_{sjr}1)



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





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

ИФ 81,7

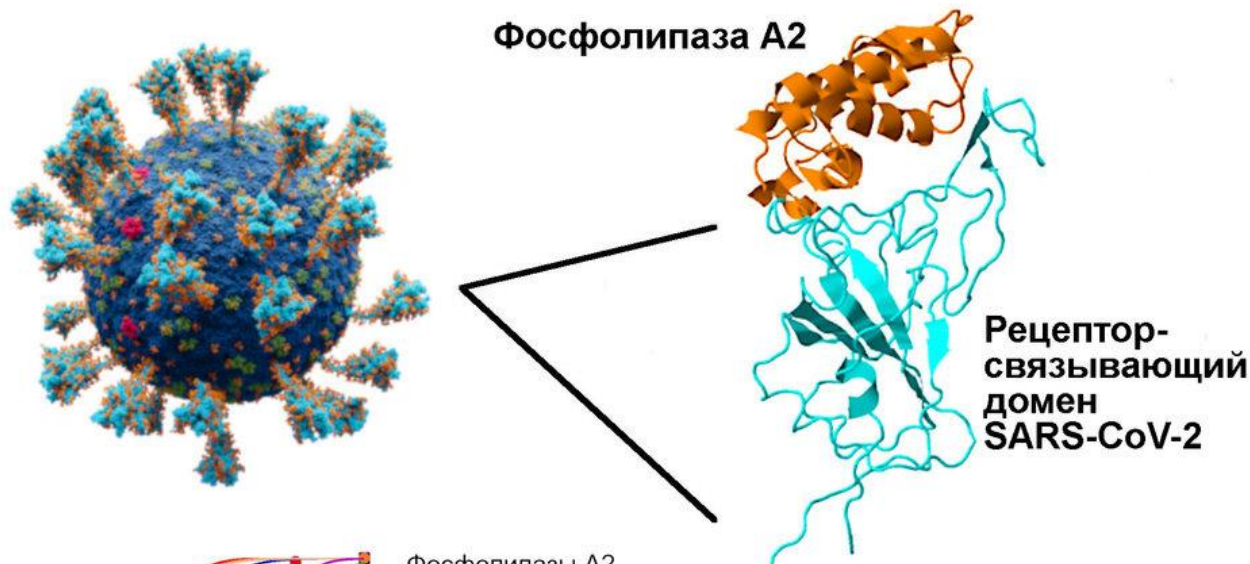
- **Лаборатория молекулярной токсикологии**
Ю.Н. Уткин

ИФ 79,8

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

ИФ 32,3

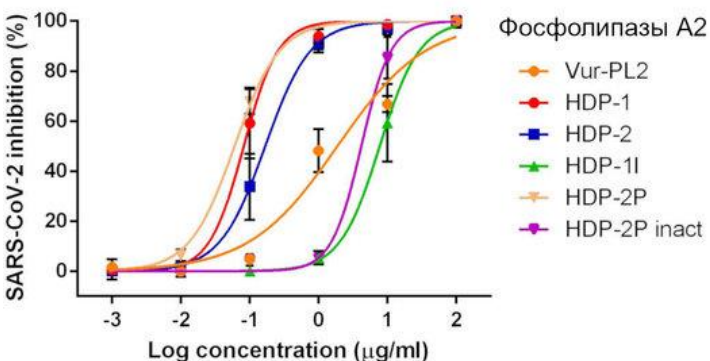
- **Лаборатория оксипинов**
В.В. Безуглов



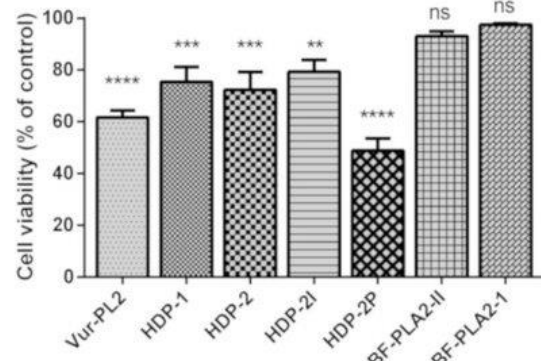
Фосфолипазы А2 (ФЛА2) из змеиного яда защищают клетки Vero E6 от цитопатического эффекта SARS-CoV-2. ФЛА2 показали низкую цитотоксичность по отношению к клеткам Vero E6, которая проявлялась при микромолярных концентрациях, но сильную противовирусную активность, обнаруживаемую при наномолярных концентрациях. ФЛА2 гадюки Никольского (*Vipera nikolskii*) проявила особенно сильный вирулицидный и противовирусный эффекты, связанные с фосфолиполитической активностью, и ингибировала слияние клеток, опосредованное взаимодействием гликопротеина S SARS-CoV-2 с ангиотензин-превращающим ферментом (ACE2). Более того, ФЛА2 препятствуют связыванию анти-ACE2 антител с ACE2 на поверхности клеток, а также рецептор-связывающего домена гликопротеина S с ACE2, что было показано методами проточной цитометрии и поверхностного плазмонного резонанса.

□ Таким образом, ФЛА2 могут предотвращать проникновение вируса в клетку, ингибируя его связывание с ACE2.

Siniavin AE et al. (2021) Snake venom phospholipase A2s exhibit strong virucidal activity against SARS-CoV-2 and inhibit the viral spike glycoprotein interaction with ACE2. *Cell Mol Life Sci* (IF=9.261, Q_{wos} 1, SJR=2.928, Q_{sjr} 1)



Кривые "доза-ответ" для ингибирования цитопатического действия SARS-CoV-2 на клетки Vero E6. IC_{50} для HDP-2P = 0.06 мкг/мл.



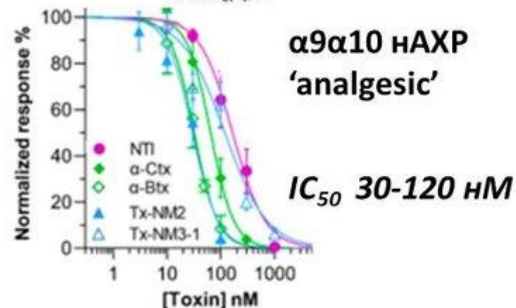
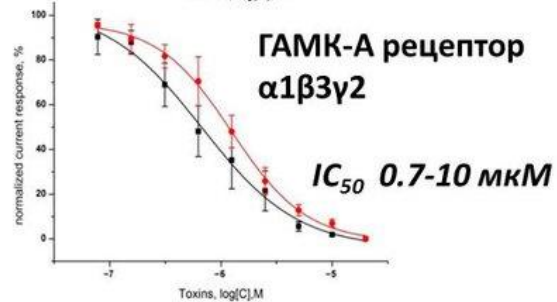
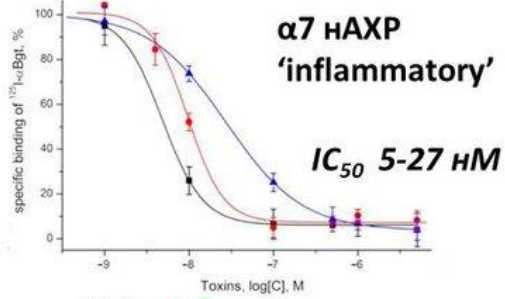
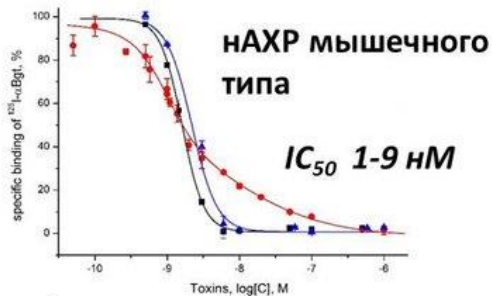
Жизнеспособность клеток Vero E6 при концентрации фосфолипаз А2 100 мкг/мл.

НОВЫЕ ТРЕХ-ПЕТЕЛЬНЫЕ НЕЙРОТОКСИНЫ ИЗ ЯДА КОБРЫ *NAJA MELANOLEUCA* ВЗАИМОДЕЙСТВУЮТ С ГАМК-А И НИКОТИНОВЫМИ АЦЕТИЛХОЛИНОВЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ

KRCYRTPDLKSTQCPGPEGLCYTKKWCADWCTSRGKVELGCVATCPVTKPYEEITCCSTDNCPNHP-KM(O)KP Tx-NM2
 IRCFITPDVTSQICADGH-VCYTKTWCDNFCASRGKVDLGC AATCPVTKPGVNIKCCSTDNCPFPFTRNRP Tx-NM4
 IRCFITPDVTSQICADGH-VCYTKTWCDWCTSRGKVDLGC AATCPVTKTGVDIKCCSTDNCPFPFTRNRP Tx-NM3-1



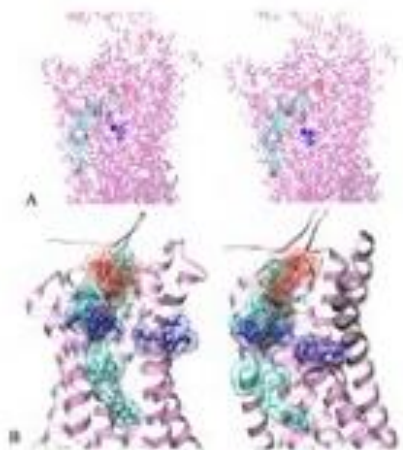
Сродство новых токсинов к разным фармакологически важным мишеням



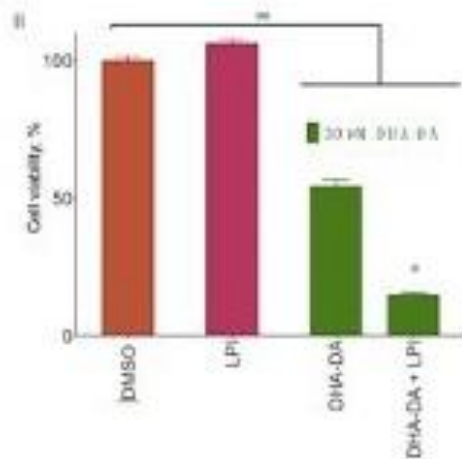
Son L et al. (2021) Novel Three-Finger Neurotoxins from *Naja melanoleuca* Cobra Venom Interact with GABAA and Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Toxins (Basel)* (IF=4.546, Q_{wos} 1, $SJR=1.047$, Q_{sjr} 1)

- Из яда африканской кобры *Naja melanoleuca* выделены три новых α-нейротоксина, близкие по аминокислотным последовательностям известным нейротоксинам 1 и 2 из этого яда.
- Исследование их взаимодействия с ионотропами рецепторами γ-аминомасляной кислоты (ГАМК-А) и различными подтипами никотиновых холинорецепторов (нАХР) показало, что все токсины взаимодействуют с ГАМК-А намного слабее, чем с нАХР.
- Анализ их взаимодействия с нАХР *Torpedo californica*, α7 и α9α10 подтипами рецептора человека выявил наномолярное сродство к первым двум мишеням и аффинность в диапазоне 30-100 нМ – к последнему.
- При этом один из выделенных токсинов (Tx-NM2) проявлял разное сродство к двум сайтам связывания на нАХР, а также проявил самое высокое сродство к нАХР α9α10 типа.
- Это первый описанный змеиный токсин, который демонстрирует такое высокое сродство к рецептору α9α10 человека, и поэтому представляет собой ценную основу для выяснения критических детерминант селективности α9α10 нАХР и разработки избирательных зондов для изучения этого подтипа нАХР.

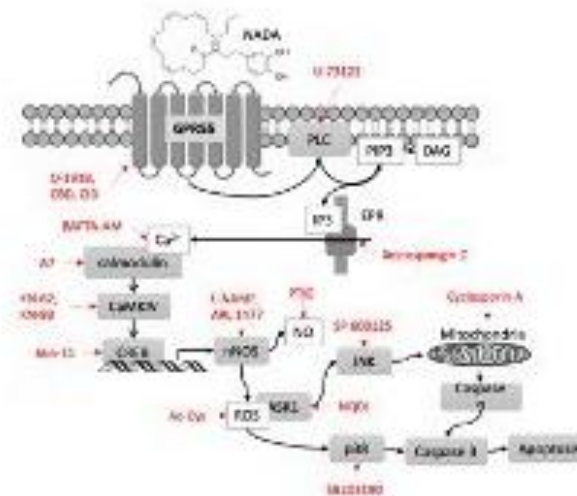
ДОКОЗАГЕКСАЕНОИЛДОФАМИН – НОВЫЙ ЭНДОГЕННЫЙ ЛИГАНД СИРОТСКОГО РЕЦЕПТОРА GPR55, ДЕЙСТВУЮЩИЙ В ПРОТИВОВЕС ЛИЗОФОСФАТИЛИНОЗИТУ



Alternative binding sites of anandamide (AA-EA, blue), lysophosphatidyl inositol (LPI, red), and N-docosahexaenoyl dopamine (DHA-DA, cyan) on GPR55 (shown in purple).



The influence of LPI (50 μM) on DHA-DA cytotoxicity for MDA-MB-231 cells. 24 h incubation.



Proposed signal transduction during the cell death induction by endovanilloid DHADA. Inhibitors used in the work are shown in red.

Akimov MG et al. (2021) GPR55 Receptor Activation by the N-Acyl Dopamine Family Lipids Induces Apoptosis in Cancer Cells via the Nitric Oxide Synthase (nNOS) Over-Stimulation. *Int J Mol Sci* (IF=5.924, Q_{wos}1, SJR=1.455, Q_{sjr}1)

- Впервые установлено, что докозагексаноилдофамин (DHA-DA) наряду с арахидоноилдофамином (AA-DA) является лигандом сиротского рецептора GPR55 из семейства неклассических каннабиноидных рецепторов, который активируется лизофосфатидилинозитом (LPI) и стимулирует пролиферацию раковых клеток. Активация этого рецептора ацилдофаминами, напротив, приводит к индукции апоптоза раковых клеток.
- С использованием панели раковых клеток и набора ингибиторов рецепторов и внутриклеточных сигнальных путей, а также с помощью измерения сигнальных молекул (Ca²⁺, NO, ROS) и экспрессии генов мы впервые показали что DHA-DA и AA-DA индуцируют апоптоз через сверхстимуляцию нейрональной синтазы оксида азота с последующей индукцией оксидативного стресса.
- При комбинированном воздействии DHA-DA и LPI, цитотоксический эффект DHA-DA оказывается сильнее про-пролиферативного действия LPI на раковые клетки, что может иметь терапевтическое значение.



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





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

ИФ 57,5

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

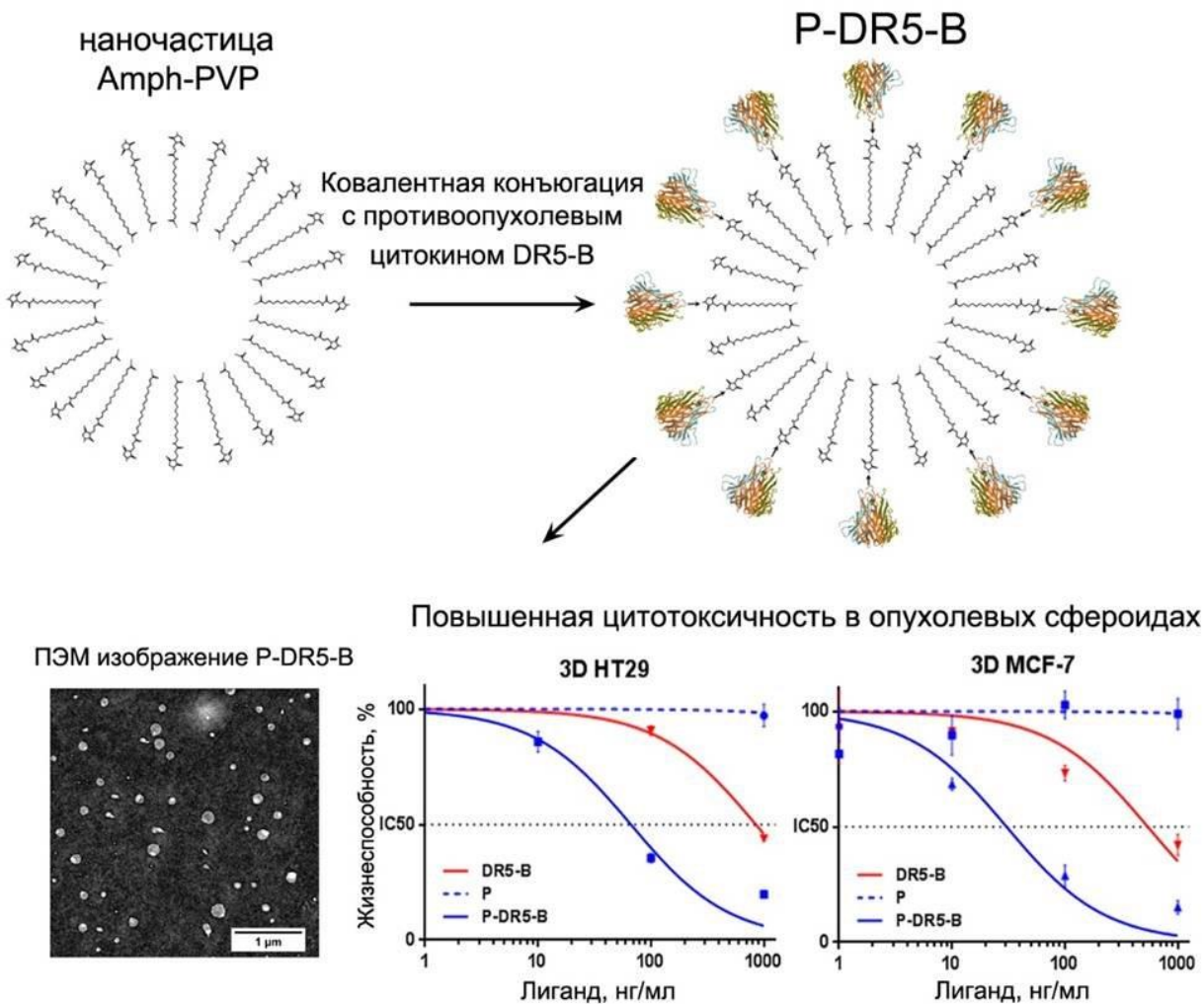
ИФ 33,4

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

ИФ 24,9

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

КОНЪЮГАЦИЯ РЕЦЕПТОР-СПЕЦИФИЧЕСКОГО ВАРИАНТА DR5-B ЦИТОКИНА TRAIL С АМФИФИЛЬНЫМИ НАНОЧАСТИЦАМИ НА ОСНОВЕ ПОЛИ-N-ВИНИЛПИРРОЛИДОНА УСИЛИВАЕТ ЕГО ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ В ОПУХОЛЕВЫХ МОДЕЛЯХ *IN VITRO*

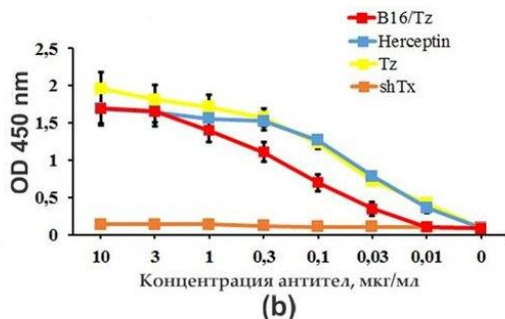
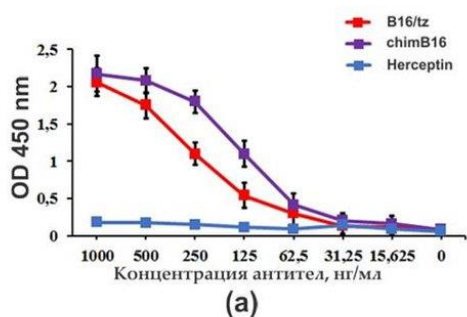
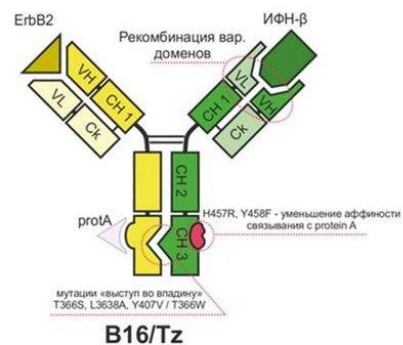
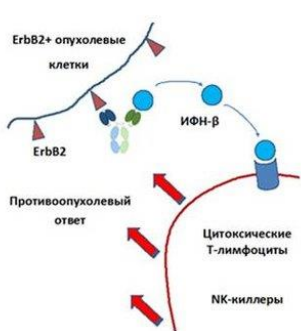


Рецептор-специфический вариант DR5-B противоопухолевого цитокина TRAIL был конъюгирован с наночастицами на основе поли-N-винилпирролидона Amph-PVP. В цитокин вводили остаток цистеина на N-конец для ковалентного связывания с наночастицами, полученными из смеси 1:1 немодифицированных и модифицированных малеимидом полимерных цепей. Цитотоксичность полученных наночастиц P-DR5-B исследовали на клеточных линиях аденокарциномы молочной железы MCF-7 и колоректальных карцином HCT116 и HT29.

- Было обнаружено усиление цитотоксичности TRAIL DR5-B, конъюгированного с наночастицами, по сравнению со свободным лигандом как в 2D (монослойная культура), так и в 3D (опухолевые сфероиды) моделях *in vitro*, причем конъюгация DR5-B с Amph-PVP-наночастицами сенсibilizировала DR5-B-резистентные опухолевые сфероиды MCF-7 и HT29.
- Конъюгация гидрофильных терапевтических белковых молекул на поверхности Amph-PVP-наночастиц с помощью клик-химии открывает новые возможности получения систем для направленной доставки лекарств в опухолевые клетки.

Yagolovich A et al. (2021) Amphiphilic Poly(N-vinylpyrrolidone) Nanoparticles Conjugated with DR5-Specific Antitumor Cytokine DR5-B for Targeted Delivery to Cancer Cells. *Pharmaceutics* (IF=6.321, Q_{wos} 1, SJR=1.054, Q_{sjr} 1)

НЕЙТРАЛИЗУЮЩЕЕ БИСПЕЦИФИЧЕСКОЕ АНТИТЕЛО К ИНТЕРФЕРОНУ-БЕТА И РЕЦЕПТОРУ ErbB2 ДЛЯ ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ ERBB2-ПОЗИТИВНЫХ ОПУХОЛЕЙ

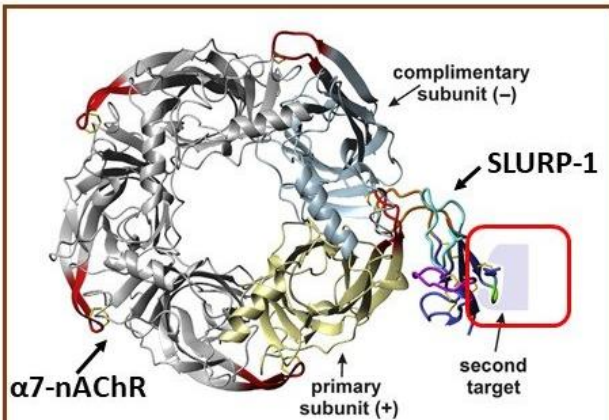


Взаимодействие биспецифического B16/Tz и химерного chimB16 антител, а также аналога антитела трастузумаб с: (a) IFN β -1a и (b) ErbB2 SKOV-3 клеточными лизатами.

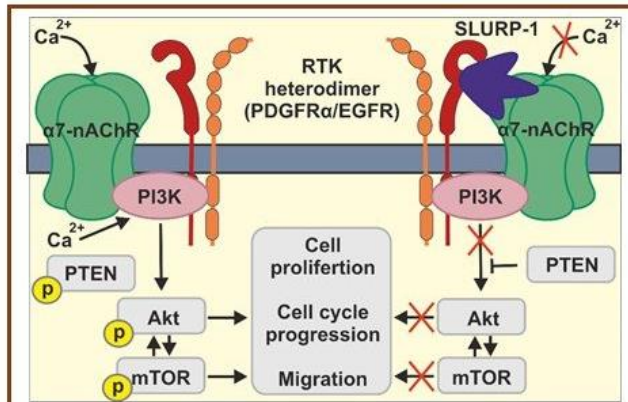
Предложен новый формат иммуоцитокина, представляющий собой комплекс биспецифического антитела и ИФН- β для таргетной терапии ErbB2-позитивных опухолей. Биспецифическое антитело B16/Tz было получено на основе двух антител: терапевтического антитела трастузумаб против онкомаркера ErbB2 и химеризованного нейтрализующего антитела V16 к ИФН- β , несущих мутации «выступ во впадину» в Fc-фрагменте, необходимые для корректной сборки биспецифической молекулы. Выбранный формат соответствует структуре полноразмерного иммуноглобулина класса IgG1, что определяет его высокую биологическую активность, взаимодействие с системой комплемента, продолжительный период полувыведения из крови и низкую иммуногенность.

- Разработанная молекула обеспечивает доставку эндогенного и экзогенного ИФН- β к опухоли и обладает нейтрализующей способностью в отношении ИФН- β , что предотвращает взаимодействие цитокина с рецептором в процессе доставки и позволяет тем самым снизить частоту потенциальных побочных эффектов.
- Взаимодействие биспецифического антитела с ИФН- β и ErbB2 было подтверждено методом «сэндвич»-ИФА, оценена и определена ИФН- β -нейтрализующая способность на линии клеток HT29 (IC₅₀ = 49,3 μ g/ml).
- Т.К. Алиев и соавт. Патенты РФ 2 748 953 от 02.06.2021 и 2 729 391 от 06.08.2020.
- Лицензионный договор между ИБХ РАН и ООО «ФАРМАПАРК» № 33-НИЛ/2021 от 31.03.2021 г.

1. Panina AA et al. (2020) Development of the Bispecific Antibody in Fab-scFv Format Based on an Antibody to Human Interferon Beta-1 and Antibody to HER2 Receptor. *Russ. J. Bioorganic Chem.* (IF=0.796, Q_{wos}4, SJR=0.228, Q_{sjr}4)
2. Rybchenko VS et al. (2021) Bispecific Antibodies for IFN- β Delivery to ErbB2+ Tumors. *Biomolecules* (IF=4.879, Q_{wos}2, SJR=1.125, Q_{sjr}2)



Shulepko M.A., Bychkov M.L., Shenkarev Z.O., Kulbatskii D.S., Makhonin A.M., Paramonov A.S., Chugunov A.O., Kirpichnikov M.P., Lyukmanova E.N. **Biochemical Basis of Skin Disease Mal de Meleda: SLURP-1 Mutants Differently Affect Keratinocyte Proliferation and Apoptosis.** *Journal of Investigative Dermatology.* 2021, S0022-202X(21)01004-6. **Q1, impact-factor 8,551**



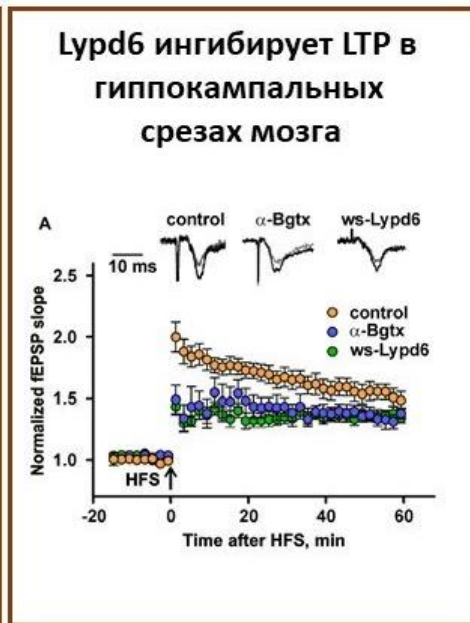
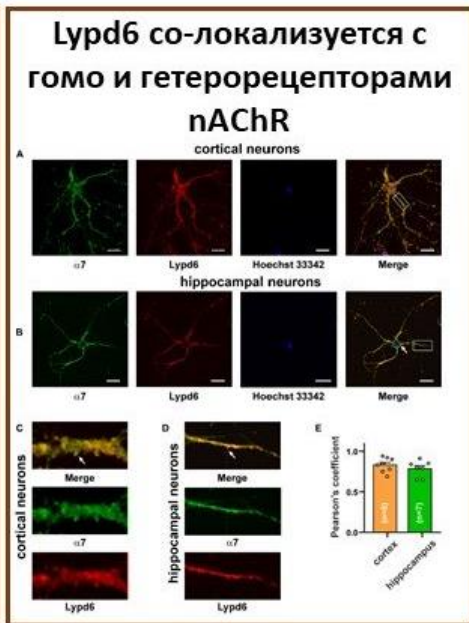
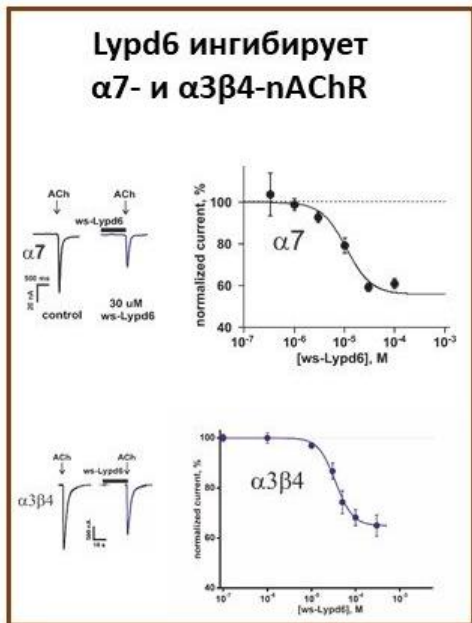
Bychkov M.L., Shulepko M.A., Shlepova O.V., Kulbatskii D.S., Chulina I.A., Paramonov A.S., Baidakova L.K., Azev V.N., Koshelev S.G., Kirpichnikov M.P., Shenkarev Z.O., Lyukmanova E.N. **SLURP-1 Controls Growth and Migration of Lung Adenocarcinoma Cells, Forming a Complex With $\alpha 7$ -nAChR and PDGFR/EGFR Heterodimer.** *Front Cell Dev Biol.* 2021, 9:739391. **Q1, impact-factor 6,684**

При изучении функциональной активности мутантных вариантов белка человека SLURP-1 мы выдвинули предположение, что кроме никотинового ацетилхолинового рецептора $\alpha 7$ типа ($\alpha 7$ -nAChR) мишенями SLURP-1 могут выступать также и другие поверхностные рецепторы, участвующие в регуляции внутриклеточной сигнализации.

- ❑ Для проверки этого предположения мы использовали метод аффинной экстракции и показали, что в клетках аденокарциномы легкого A549 рекомбинантный SLURP-1 образует комплекс не только с $\alpha 7$ -nAChR, но также с PDGFR α и EGFR.
- ❑ Взаимодействие SLURP-1 с этими рецепторами приводит к подавлению сигнального пути PI3K/AKT/mTOR и как следствие, к снижению пролиферацию и миграции клеток A549.
- ❑ Используя химерные белки с пересаженными фрагментами SLURP-1, мы показали, что петля I является основным функциональным элементом SLURP-1.
- ❑ Синтетический пептид, имитирующий петлю I, проявлял активность близкую к активности нативного SLURP-1 и может считаться прототипом нового противоопухолевого препарата.

Совместно с ● Биологическим факультетом МГУ

1. Bychkov ML et al. (2021) SLURP-1 Controls Growth and Migration of Lung Adenocarcinoma Cells, Forming a Complex With $\alpha 7$ -nAChR and PDGFR/EGFR Heterodimer. ***Front Cell Dev Biol* (IF=6.684, Q_{wos} 1, SJR=2.452, Q_{sjr} 1)**
2. Shulepko MA et al. (2021) Biochemical basis of skin disease Mal de Meleda: SLURP-1 mutants differently affect keratinocyte proliferation and apoptosis. ***J Invest Dermatol* (IF=8.551, Q_{wos} 1, SJR=1.951, Q_{sjr} 1)**



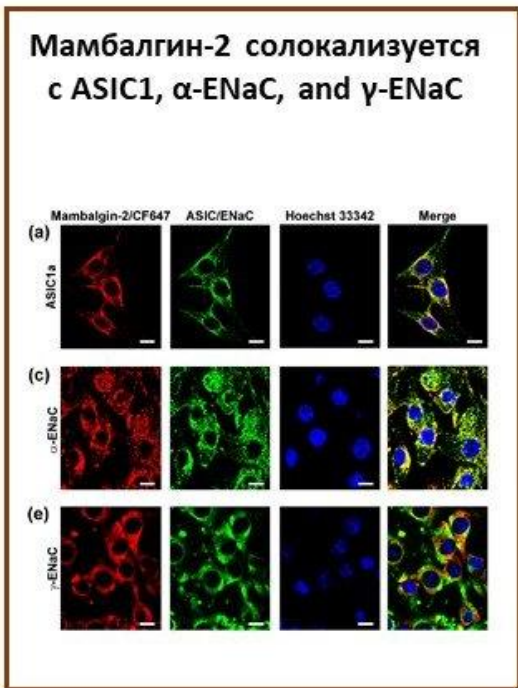
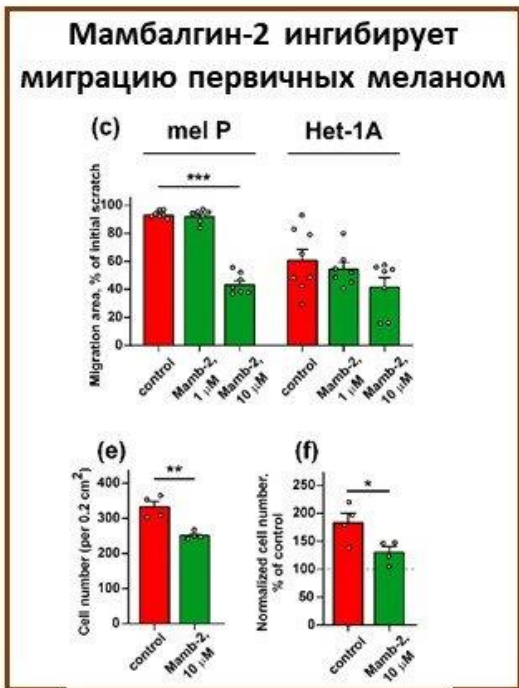
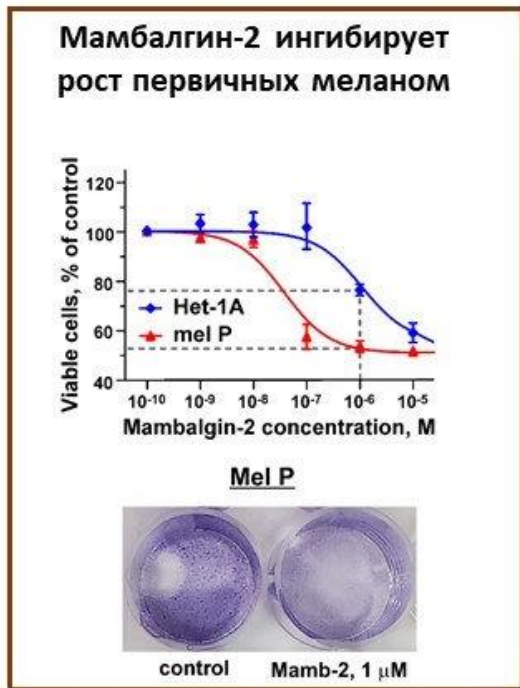
Lypr6 представляет собой GPI-связанный белок из семейства Ly-6/uPAR, экспрессируемый в головном мозге. Чтобы исследовать холинергическую активность Lypr6, был получен рекомбинантный водорастворимый вариант белка человека (ws-Lypr6).

Эксперименты с различными подтипами nAChR, экспрессируемыми в ооцитах *Xenopus*, выявили отрицательную аллостерическую модулирующую активность ws-Lypr6 в отношении $\alpha 3\beta 4$ - и $\alpha 7$ -nAChR. При этом ws-Lypr6 не вызывал токи через nAChR в отсутствие ACh. Инкубация с 1 мМ ws-Lypr6 значительно подавляла вызванный холином ток через $\alpha 7$ -nAChR в срезах гиппокампа крысы. Подобно змеиному нейротоксину *a*-бунгаротоксину, ws-Lypr6 подавлял долгосрочную потенциацию (LTP) в срезах гиппокампа мышей. В первичных кортикальных нейронах и нейронах гиппокампа была показана солокализация эндогенного GPI-связанного Lypr6 с $\alpha 3\beta 4$ - и $\alpha 7$ -nAChR.

- Построена компьютерная модель взаимодействия Ws-Lypr6 с внеклеточным доменом $\alpha 7$ -nAChR.
- Полученные результаты позволяют рассматривать Lypr6 как эндогенный негативный модулятор, участвующий в регуляции холинергической системы головного мозга.

Совместно с ● Биологическим факультетом МГУ, ● НМИЦ им. Н.Н. Блохина и ● Левенским университетом (Бельгия)

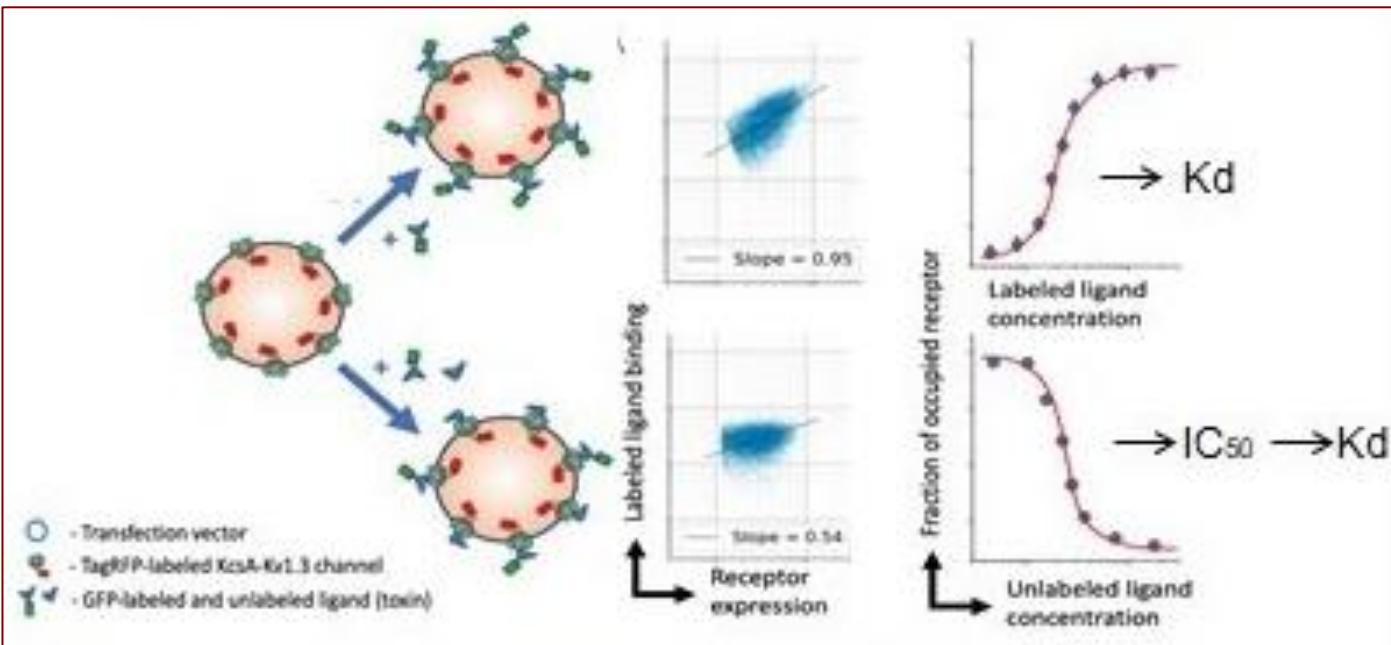
Kulbatskii D et al. (2021) Human Three-Finger Protein Lypr6 Is a Negative Modulator of the Cholinergic System in the Brain. *Front Cell Dev Biol* (IF=6.684, Q_{wos} 1, SJR=2.452, Q_{sjr} 1)



- ❑ Мы показали, что закисление внеклеточной среды увеличивает пролиферацию, миграцию и инвазию клеток метастатической меланомы, полученных от пациентов, и регулирует экспрессию на клеточной поверхности протон-чувствительных каналов, содержащих субъединицы ASIC1a, α-ENaC и γ-ENaC.
- ❑ Рекомбинантный аналог трехпетельного токсина мамбалгина-2 отменял вызванную закислением пролиферацию, миграцию и инвазию клеток метастатической меланомы, способствовал апоптозу и подавлял экспрессию проонкогенных факторов CD44 и Frizzled 4 и фосфорилирование фактора транскрипции SNAI на поверхности раковых клеток.
- ❑ С помощью конфокальной микроскопии и аффинной экстракции было показано, что мамбалгин-2 взаимодействует с гетеротримерными каналами ASIC1a/α-ENaC/γ-ENaC на поверхности клеток меланомы.

Совместно с ● НМИЦ им. Н.Н. Блохина и ● Биологическим факультетом МГУ

Bychkov ML et al. (2021) Mambalgin-2 inhibits growth, migration, and invasion of metastatic melanoma cells by targeting the channels containing an asic1a subunit whose up-regulation correlates with poor survival prognosis. *Biomedicines* (IF=6.081, Q_{wos}1, SJR=1.511, Q_{sjr}1)



Совместно с ● Биологическим факультетом МГУ

1. Sharonov GV et al. (2021) Bioengineered System for High Throughput Screening of Kv1 Ion Channel Blockers. *Bioengineering (Basel)* (IF=0, Q_{wos} 0, SJR=0.778, Q_{sjr} 2)
2. Kudryashova KS et al. (2021) Chimeras of KcsA and Kv1 as a bioengineering tool to study voltage-gated potassium channels and their ligands. *Biochem Pharmacol* (IF=5.858, Q_{wos} 1, SJR=1.595, Q_{sjr} 1)

Химерные каналы KcsA-Kv1, имитирующие внешний сайт связывания поровых блокаторов калиевых каналов Kv1, используются для изучения аффинности лигандов Kv1- каналов.

- ▣ Разработана новая аналитическая система для изучения взаимодействия KcsA-Kv1 с блокаторами, включающая:
 - сферопласты клеток *E. coli*, экспрессирующих в плазматической мембране флуоресцентно-меченые химерные каналы TagRFP-KcsA-Kv1;
 - флуоресцентные генокодируемые лиганды GFP-ChTx и GFP-AgTx2;
 - метод проточной цитометрии;
 - оригинальную методику анализа данных проточной цитометрии для определения констант диссоциации (Kd) комплексов лигандов с каналами.
- ▣ Преимущества аналитической системы: быстрота получения и обчета данных, возможность высокопроизводительного скрининга лигандов, возможность мультиплексного анализа нескольких каналов-мишеней.
- ▣ Система может быть использована для скрининга блокаторов Kv1 каналов, в том числе, в целях разработки новых лекарственных средств на основе пептидных блокаторов.



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





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

ИФ 78,3

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

ИФ 127,7

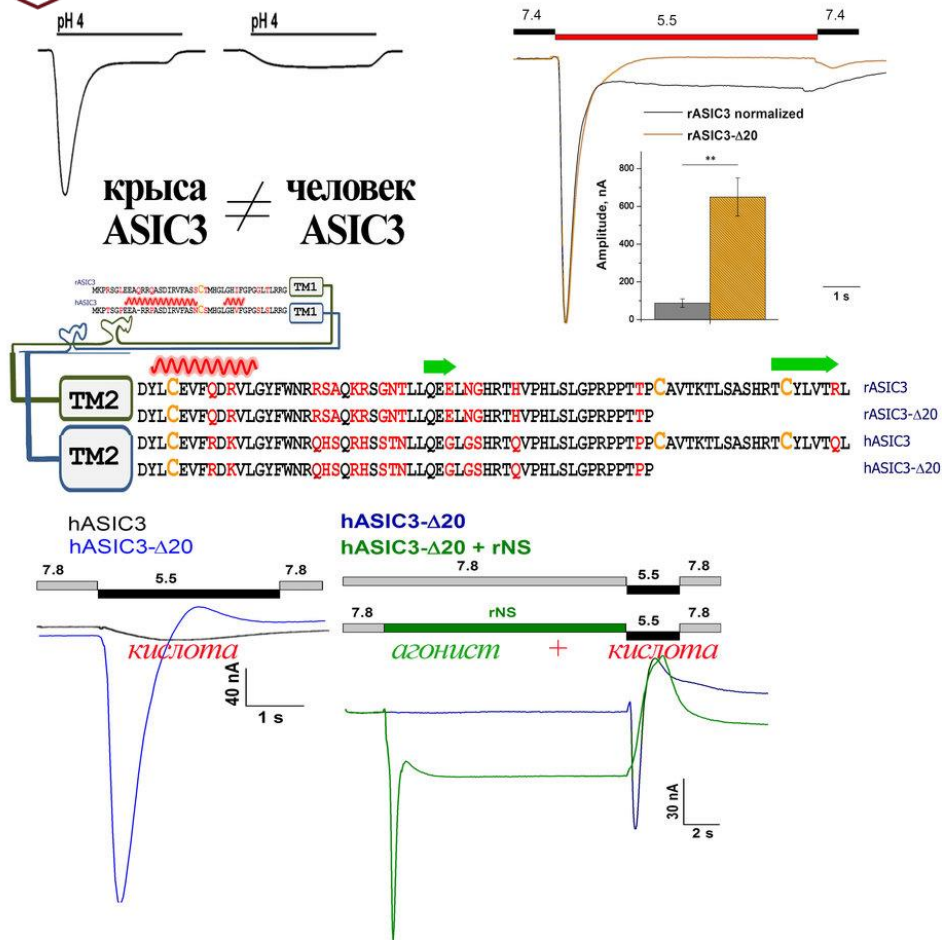
- **Лаборатория внесинаптической передачи**
А.В. Семьянов

ИФ 34,1

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

ИФ 21,7

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

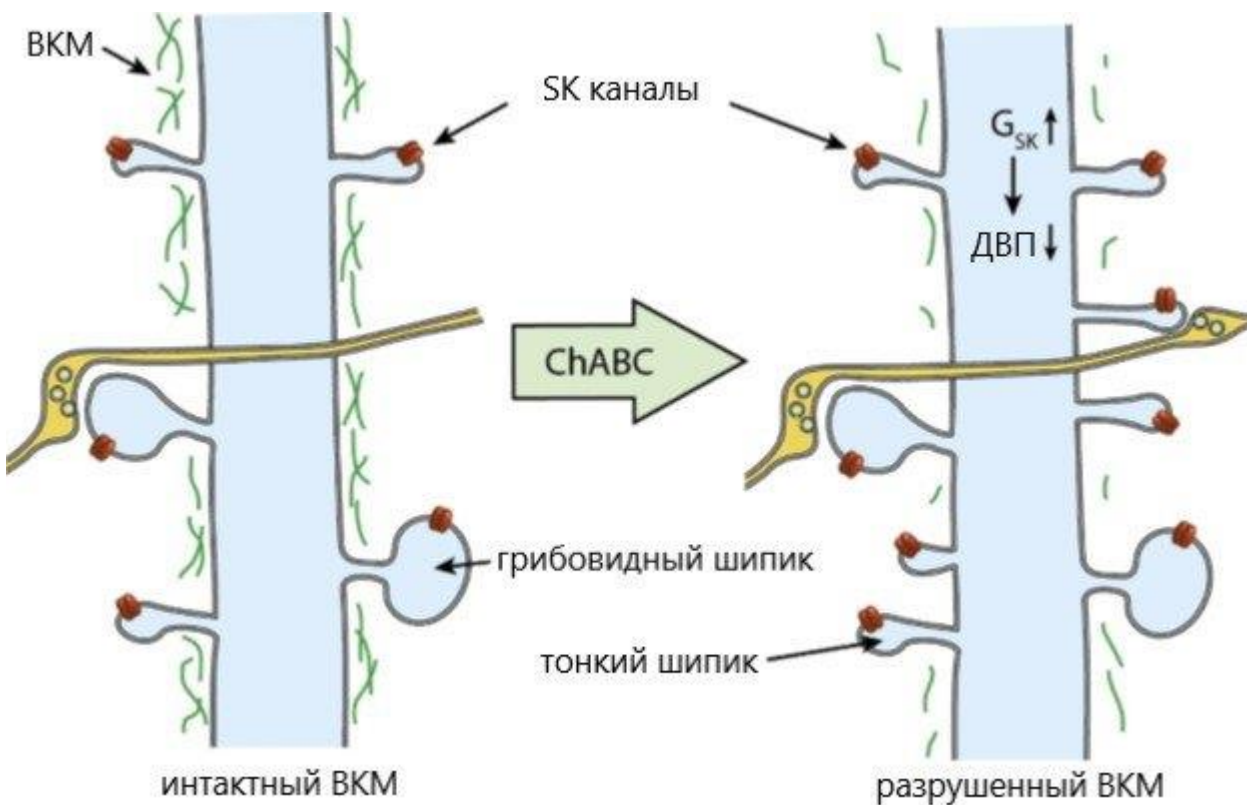


Повышение концентрации протонов в синаптической щели при выбросе нейромедиаторов считается одним из возможных способов сенсibilизации постсинаптической мембраны, что в конечном итоге может приводить к развитию нейродегенеративных заболеваний или к нарушению когнитивных способностей. Одним из основных сенсоров закисления являются представители семейства кислото-чувствительных ионных каналов (ASIC).

- ❑ Одна из изоформ – ASIC3, которая обильно представлена на постсинаптической мембране ноцицепторов относится к перспективным мишеням для разработки терапевтических средств. Несмотря на высокую степень идентичности между ортологами ASIC3 каналов млекопитающих, имеется ряд различий, что осложняет простой перенос регистрируемых эффектов в животных тестах на эффекты, ожидаемые в клинической практике. Наиболее проблемно то, что человеческий ASIC3 канал (hASIC3), в отличие от канала крысы (rASIC3) при физиологическом значении внеклеточного pH 7.4 находится в состоянии очень слабой чувствительности к протонам.
- ❑ Мутагенез С-концевого внутриклеточного домена канала выявил причину аномального поведения hASIC3. Элиминирование или, в меньшей степени, блокирование этого участка hASIC3 приводит к восстановлению профиля тока (как у грызунов), регистрируемого в эксперименте whole-cell на гетерологически экспрессированных каналах, при активации мутантных каналов протонами или агонистом.
- ❑ Полученные результаты демонстрируют особую важность роли внутриклеточной регуляции ASIC3 каналов посредством внутриклеточного домена, которую необходимо учитывать далее в разработке тестов на животных моделях или при дизайне лекарственных препаратов.

Osmakov DI et al. (2021) The Role of the C-terminal Intracellular Domain in Acid-Sensing Ion Channel 3 Functioning. *J Evol Biochem Physiol* (IF=0.444, Q_{wos} 4, SJR=0, Q_{sjr} 0)

РАЗРУШЕНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА МОЗГА ПРИВОДИТ К ФОРМИРОВАНИЮ НОВЫХ СИНАПСОВ, НО ПОДАВЛЯЕТ СИНАПТИЧЕСКУЮ ПЛАСТИЧНОСТЬ ПОСРЕДСТВОМ ПОВЫШЕНИЯ ПРОВОДИМОСТИ SK КАНАЛОВ

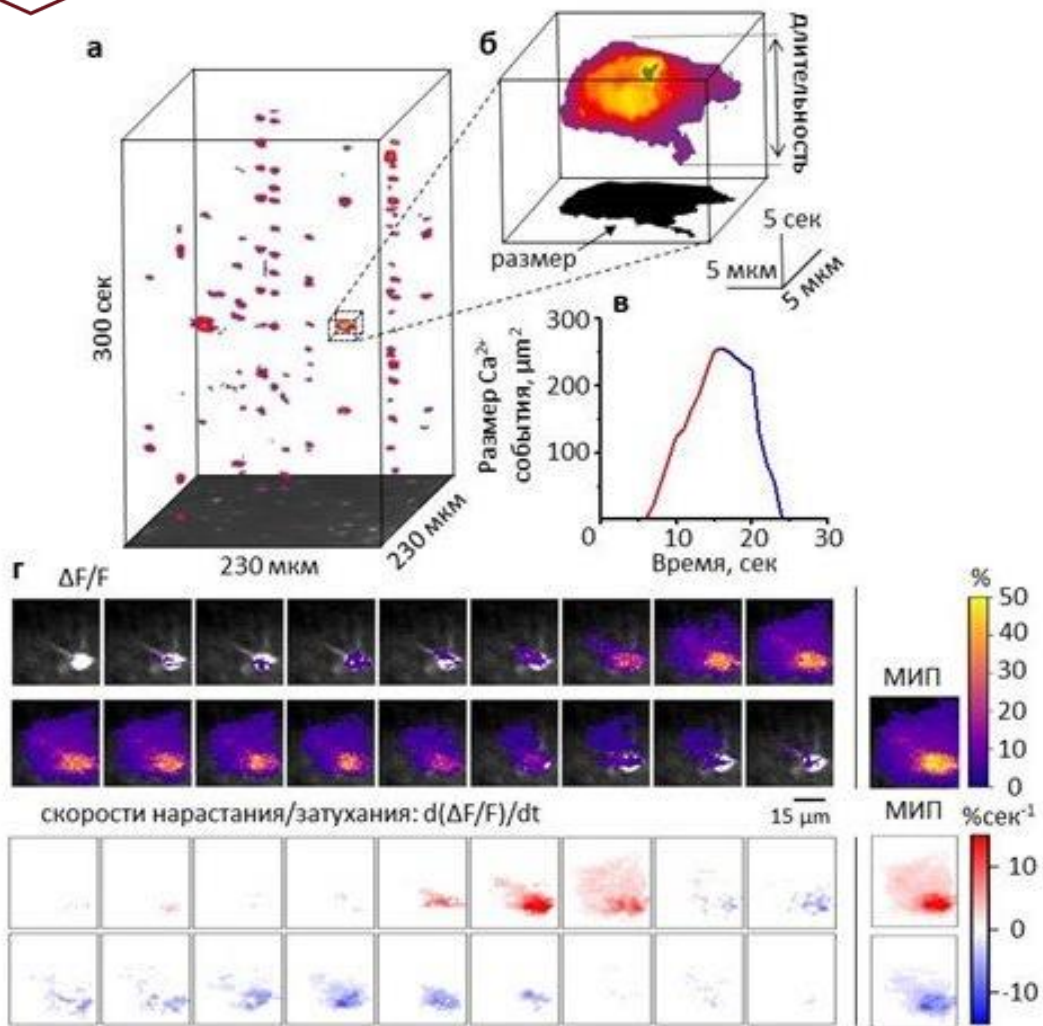


Роль внеклеточного матрикса головного мозга (ВКМ) в регуляции синаптической пластичности остаётся недостаточно хорошо изученной. Мы показали, что ферментативное разрушение ВКМ с помощью хондроитиназы ABC (ChABC) вызывает появление новых глутаматергических синапсов на пирамидных нейронах в области CA1 гиппокампа. При этом уменьшается как средняя амплитуда миниатюрных возбуждающих постсинаптических токов, так и соотношение AMPA/NMDA токов, свидетельствуя о том, что новые синапсы являются непотенцированными. Однако несмотря на увеличение числа непотенцированных синапсов мы наблюдали снижение величины долговременной потенциации (LTP). Это происходило за счёт увеличения проводимости кальций-активируемых калиевых каналов малой проводимости (SK каналы) и снижения, таким образом, возбудимости пирамидных нейронов. Блокирование SK каналов восстанавливало возбудимость клеток и усиливало LTP выше контрольных значений. Усиление LTP подавлялось при блокировании Rho-ассоциированной протеинкиназы (ROCK), которая участвует в перестройке цитоскелета и формировании дендритных шипиков.

- Таким образом, разрушение ВКМ может вызывать появление новых синапсов, что потенциально может применяться в регенеративной медицине. Однако этот процесс компенсируется снижением возбудимости постсинаптических нейронов, предотвращая перевозбуждение сети в ущерб синаптической пластичности.

Dembitskaya Y et al. (2021) Attenuation of the extracellular matrix increases the number of synapses but suppresses synaptic plasticity through upregulation of SK channels. *Cell Calcium* (IF=6.817, Q_{wos}1, SJR=2.258, Q_{sjr}1)

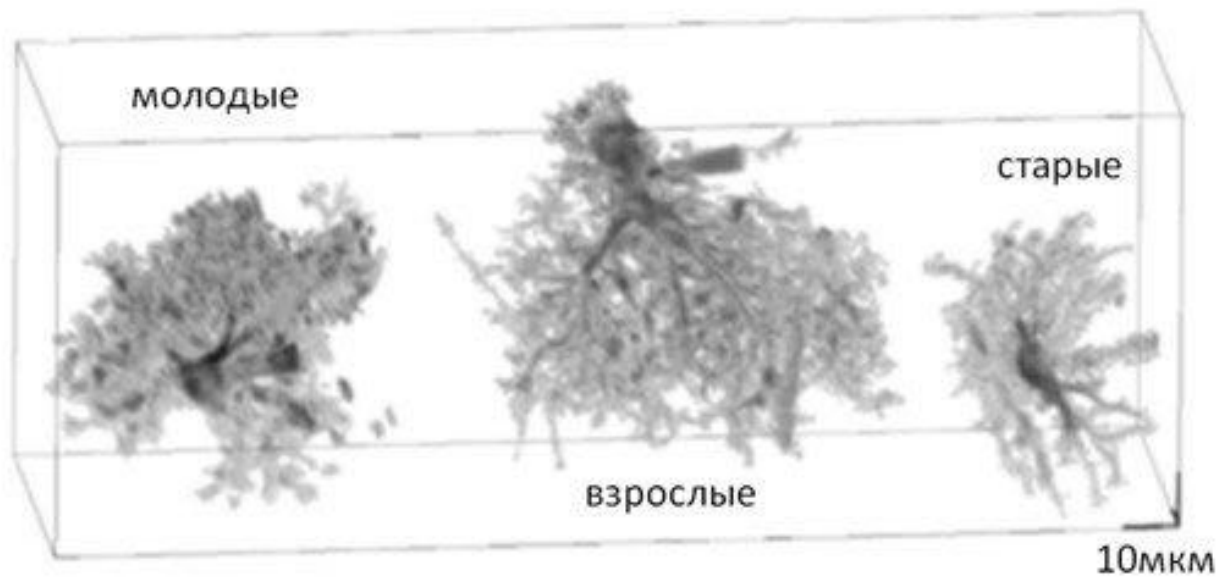
ПРОСТРАНСТВЕННО-ВРЕМЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АСТРОЦИТАРНОЙ КАЛЬЦИЕВОЙ ДИНАМИКИ ГИППОКАМПА ИЗМЕНЯЮТСЯ ПРИ СОКРАЩЕНИИ ПОТРЕБЛЕНИЯ КАЛОРИЙ



- Были проанализированы пространственно-временные характеристики кальциевой динамики астроцитов в слое *stratum radiatum* области CA1 гиппокампальных срезов головного мозга молодых мышей возрастом 2–3 месяца. Животные контрольной группы потребляли пищу *ad libitum*. Животные из группы сокращения калорий (СК) в течение одного месяца потребляли 70% калорий от нормы контрольных животных. В результате у животных группы СК астроцитарные кальциевые события стали короче по длительности и меньше по размеру. Астроцитарные кальциевые сигналы у мышей группы СК имели более высокую амплитуду и более высокие скорости нарастания и затухания. Эти изменения можно объяснить морфологической перестройкой астроцитов, индуцированной диетой.
- СК-индуцированные изменения параметров астроцитарной кальциевой динамики были частично нивелированы ингибированием щелевых контактов/гемиканалов карбенексолоном. Эффект карбенексолона на кальциевую активность у СК животных был неожиданным, поскольку диета уже снижает связь щелевых контактов в астроцитарном синцитии. Это может отражать блокаду гемиканалов, также чувствительных к этому препарату.
- Таким образом, индуцированное СК морфологическая перестройка астроцитов отвечает за изменения паттерна кальциевой активности в астроцитарной сети.

Denisov P et al. (2021) Caloric restriction modifies spatiotemporal calcium dynamics in mouse hippocampal astrocytes. *Biochim Biophys Acta* (IF=4.739, Q_{wos} 2, SJR=1.715, Q_{sjr} 2)

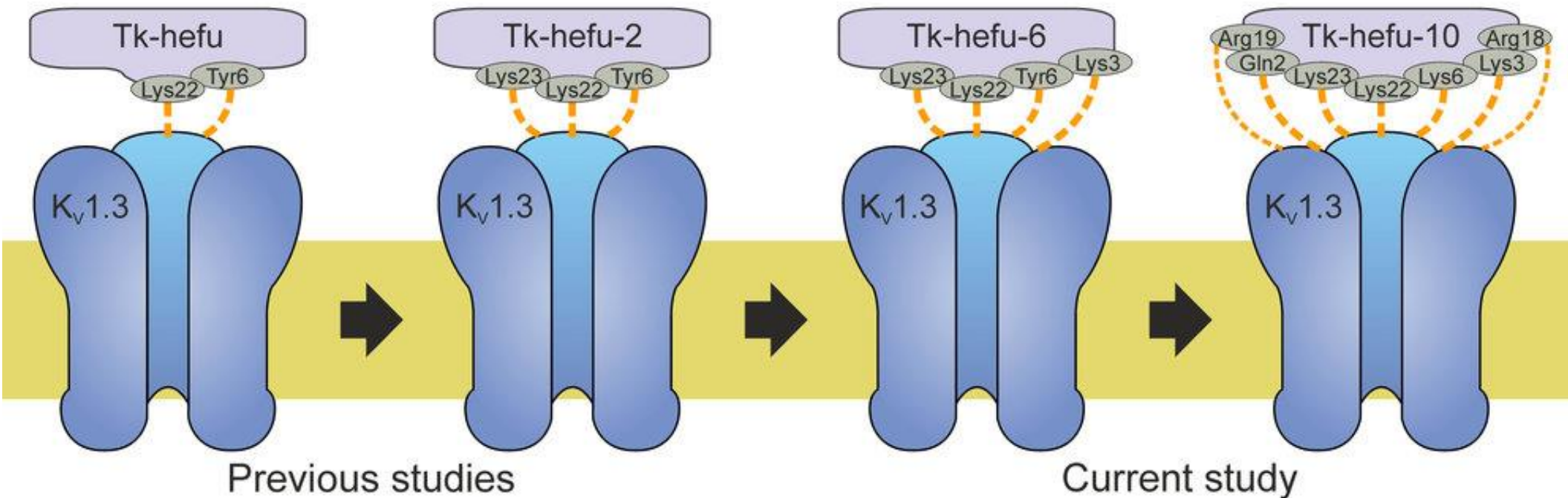
ДИСТРОФИЯ АСТРОЦИТОВ В СТАРЕЮЩЕМ МОЗГЕ СОПРОВОЖДАЕТСЯ НАРУШЕНИЕМ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ



Popov A et al. (2021) Astrocyte dystrophy in ageing brain parallels impaired synaptic plasticity. *Ageing Cell* (IF=9.304, Q_{wos} 1, SJR=3.103, Q_{sjr} 1)

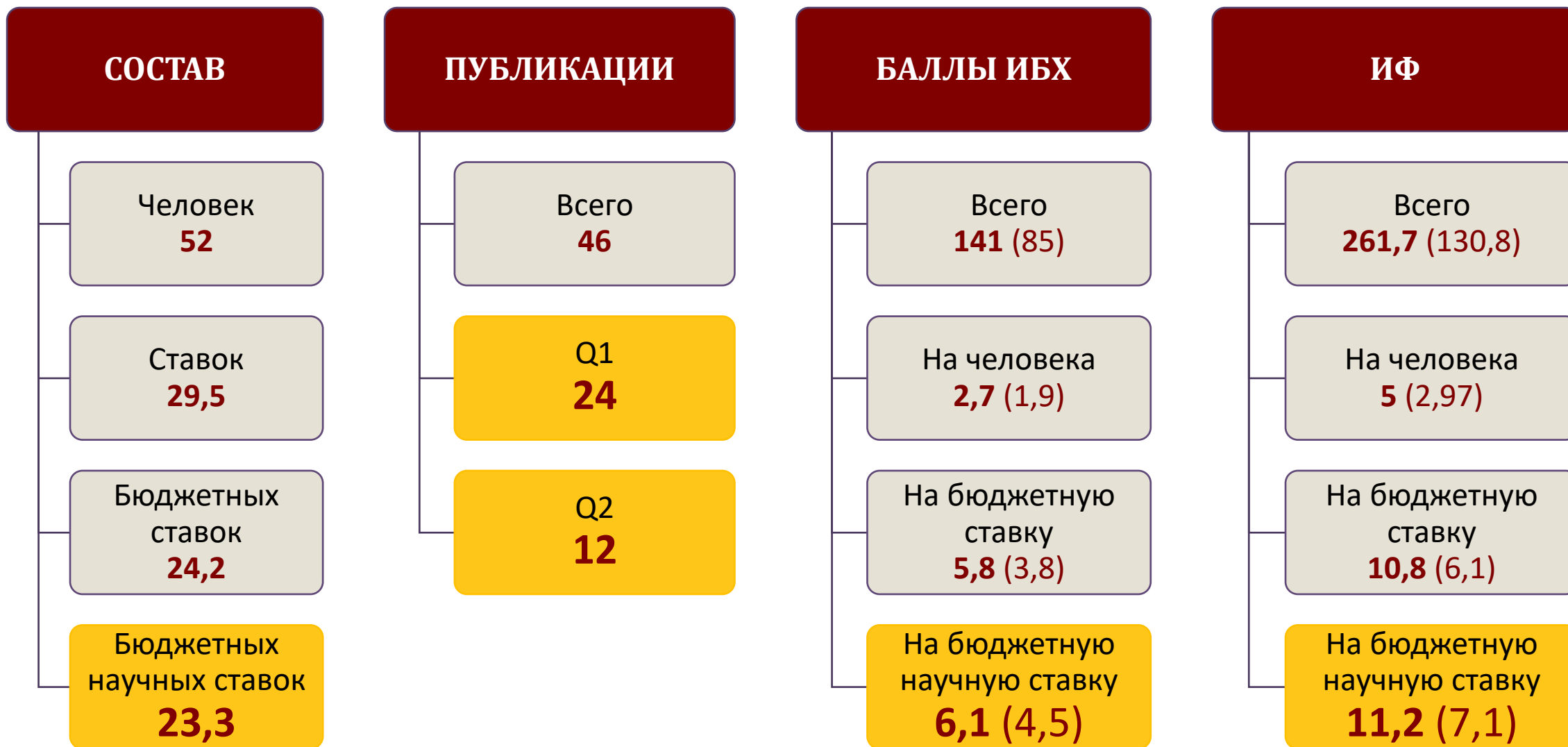
Возрастные изменения в структуре и функциях астроцитов и их влияние на снижение когнитивных функций в стареющем мозге на сегодняшний день недостаточно изучены.

- ❑ Используя двухфотонную микроскопию в сочетании с трехмерной реконструкцией, анализом по Шоллю и анализом объемной фракции неразрешённых астроцитарных отростков, мы показали значительное снижение площади территориальных доменов астроцитов, сокращение количества и длины оптически разрешённых астроцитарных отростков, снижение объёмной доли терминальных (оптически не разрешённых) отростков, снижение числа межастроцитарных клеточных контактов в стареющем мозге мышей C57Bl6.
- ❑ Исследование физиологии астроцитов с помощью фиксации астроцитарных токов методом патч-кламп и визуализации кальциевых сигналов выявили снижение калиевого тока и удаления глутамата, а также пространственно-временную реорганизацию кальциевых событий в астроцитах стареющих животных.
- ❑ Эти изменения происходили на фоне нарушения синаптической долговременной потенциации (LTP) в CA1 гиппокампа у стареющих мышей.
- ❑ Наши результаты могут объяснить астроглиальные механизмы возрастного снижения обучаемости и памяти.



Tabakmakher VM et al. (2021) Potassium channel blocker crafted by α -hairpin scaffold engineering. *Biophys J* (IF=4.033, Q_{wos} 2, SJR=1.713, Q_{sjr} 1)

Ранее для скаффолд-инженерии лигандов ионных каналов мы предложили использовать α -гарпининовую укладку, а [метод белковой топографии](#) — для улучшения их свойств. Теперь мы применили молекулярную динамику для анализа комплекса искусственного α -гарпинина и калиевого канала человека $K_v1.3$. Такой анализ позволил предложить дополнительные модификации структуры α -гарпинина и увеличить его аффинность к выбранной мишени.





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

ИФ 51,3

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

ИФ 75,7

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

ИФ 43,3

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

ИФ 28,3

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

ИФ 20

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

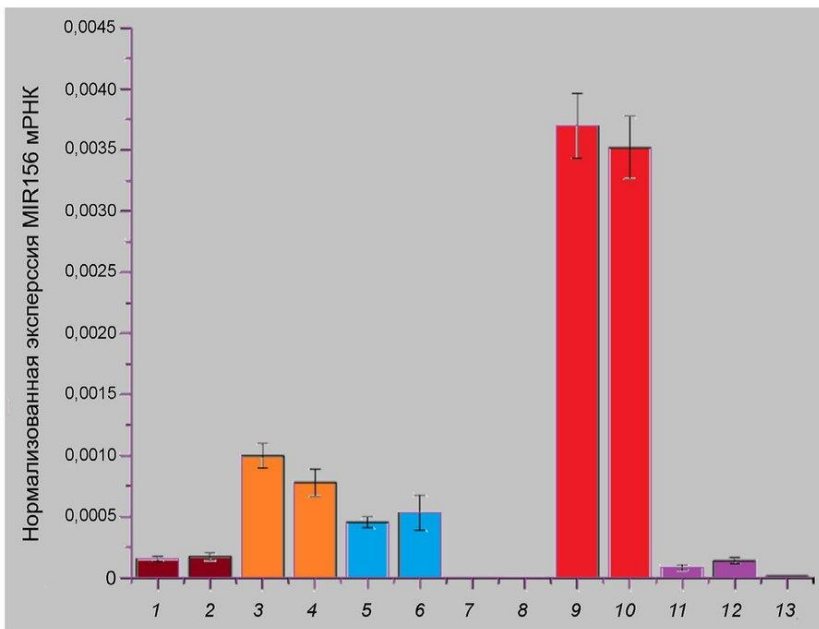


Рис. 1. Результаты кПЦР по измерению уровня экспрессии pri-miRNA156a в растениях семейства *Brassicaceae*. 1 – Брокколи (20-дневное растение, листья); 2 – брокколи (20-дневное растение, корень); 3 – проростки брокколи (4 дня) с добавлением пептида miPEP-156a (10 мкг/мл, выращивание при 20 °С); 4 – проростки брокколи (4 дня) с добавлением пептида (10 мкг/мл, выращивание при 24 °С); 5 – проростки брокколи (4 дня) на чашке Петри, контроль (вода, выращивание при 20 °С); 6 – проростки брокколи (4 дня) на чашке Петри, контроль (вода, выращивание при 24 °С); 7 – взрослые цветущие растения арабидопсиса (корни); 8 – взрослые цветущие растения арабидопсиса (листья); 9 – арабидопсис, проростки (4 дня при 20 °С) целиком (с корнями); 10 – арабидопсис, проростки (4 дня при 24 °С) целиком (с корнями); 11 – пекинская капуста (20-дневное растение, стебель); 12 – пекинская капуста (20-дневное растение, лист); 13 – пекинская капуста (20-дневное растение, корень). Для каждого из трех независимых повторов РНК выделяли из смеси пяти растительных проб. На рисунке указаны средние статистические значения в виде столбчатой диаграммы и стандартные отклонения. Статистическая значимость различий сумм значений в экспериментах 3 и 4 относительно экспериментов 5 и 6 составляла для этих двух выборок $p < 0,05$, согласно критерию Стьюдента (расчёт на основе программы GraphPad Prism 7.0 – https://graphpad_prism.software.informer.com/7.0/).

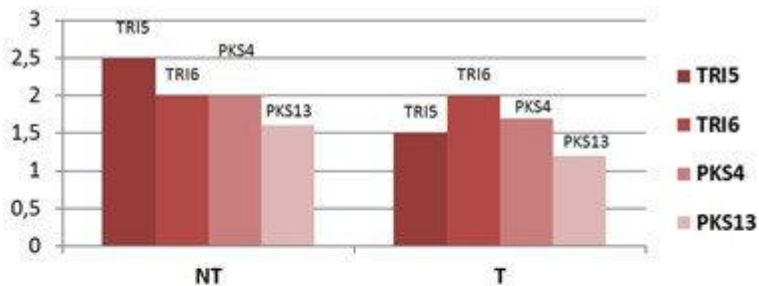
Недавние исследования показали, что в растениях первичные транскрипты некоторых генов miRNA (pri-miRNA) способны экспрессировать короткие белки (пептиды) размером от 12–15 до 30–40 а.о. Эти пептиды, названные miPEP, могут участвовать в регуляции транскрипции собственных pri-miRNA и сохраняют биологическую активность при экзогенном введении в растения через корневую систему. Используя биоинформатический сравнительный анализ последовательностей РНК-транскриптов и геномов растений, нами ранее была обнаружена новая группа miPEP (miPEP-156a), которая кодируется первичными транскриптами pri-miR156a у нескольких десятков видов из семейства *Brassicaceae*. Экзогенные химически синтезированные пептиды miPEP-156a способны эффективно проникать в проростки растений через корневую систему и распространяться по растению локально и системно в листьях молодых проростков. При этом наблюдается морфологический эффект, заключающийся в ускоренном росте основного корня проростка. Параллельно наблюдается позитивный эффект на уровне экспрессии pri-miR156a. Важно, что с эффектами на морфологическом и молекулярном уровнях коррелирует способность пептида быстро проникать в ядра клеток и связываться *in vitro* как с хроматином, так и с ДНК.

□ В настоящей работе была экспериментально установлена вторичная структура пептида и показано изменение этой структуры в комплексе с ДНК.

1. Morozov SY et al. (2021) Possible Functions of the Conserved Peptides Encoded by the RNA-precursors of miRNAs in Plants. *Arch Proteom and Bioinform* (IF=, Q_{wos} , SJR=, Q_{sjr})
2. Erokhina TN et al. (2021) Activity of Chemically Synthesized Peptide Encoded by the miR156A Precursor and Conserved in the Brassicaceae Family Plants. *Biochemistry (Mosc)* (IF=2.487, Q_{wos} 4, SJR=0.747, Q_{sjr} 2)

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ТИМОЛА, НОВОГО ИНГИБИТОРА МИКОТОКСИГЕНЕЗА, С ДРУГИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ, И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА БИОСИНТЕЗ МИКОТОКСИНОВ У ГРИБА *FUSARIUM CULMORUM*

А



Б

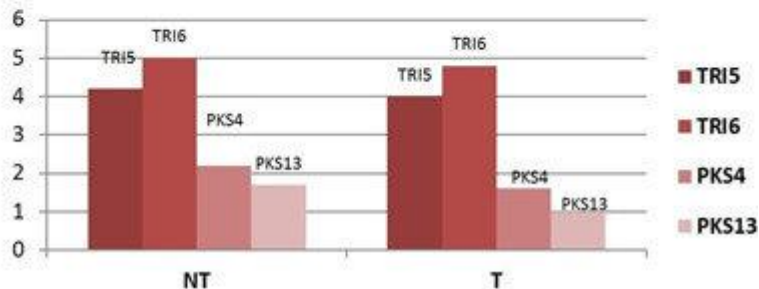


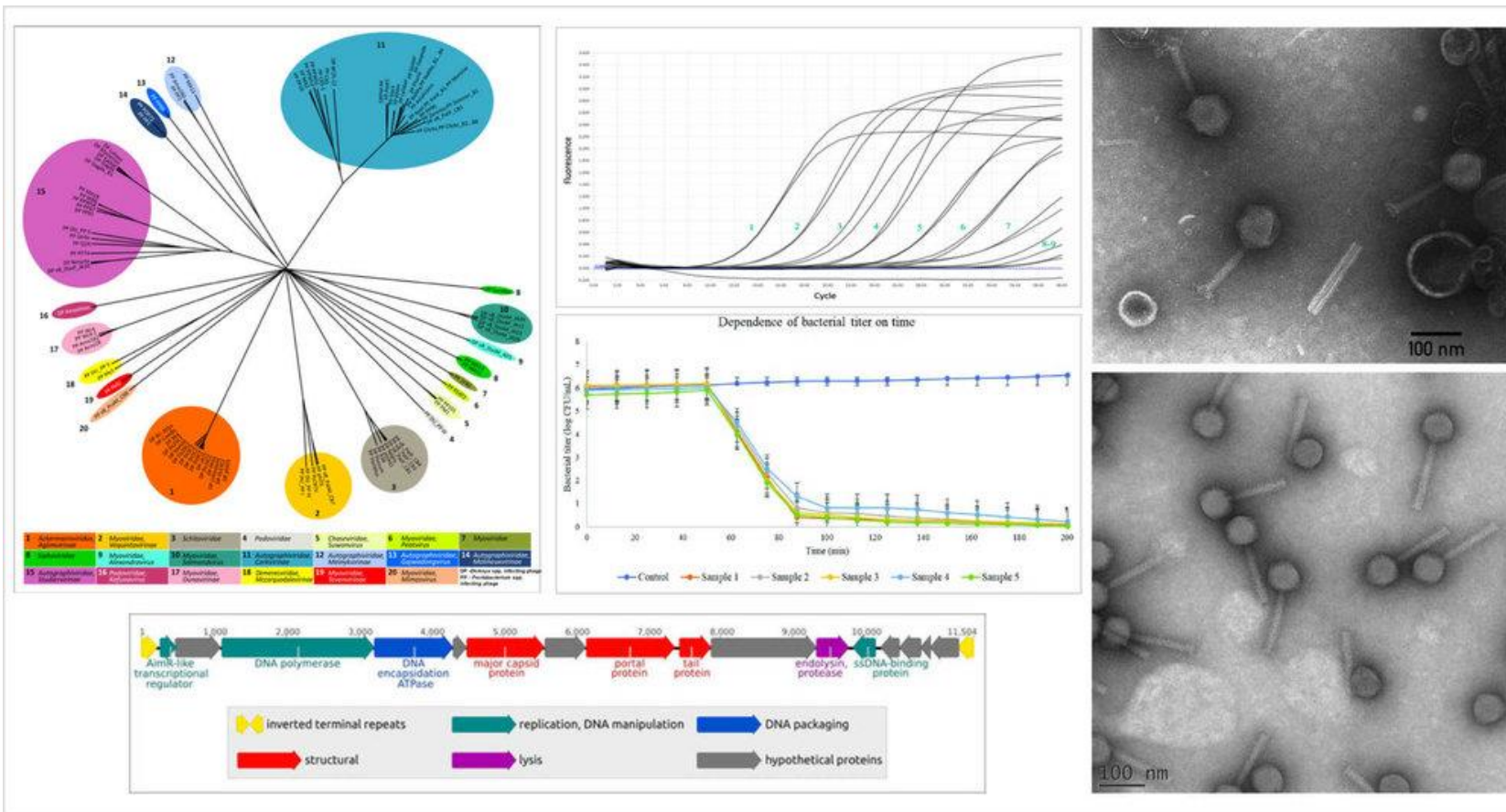
Рис. 1. Эффект, оказываемый тимолом в рабочей концентрации 50 ppm, на экспрессию генов трихотеценового кластера у *F. culmorum* OR-02-37: (А) – в жидкой среде, (Б) – на твердой среде. NT – необработанные образцы, Т – обработанные тимолом.

Shcherbakova L et al. (2021) Studying the Ability of Thymol to Improve Fungicidal Effects of Tebuconazole and Difenoconazole Against Some Plant Pathogenic Fungi in Seed or Foliar Treatments. *Front Microbiol* (IF=5.64, Q_{wos} 1, SJR=1.701, Q_{sjr} 1)

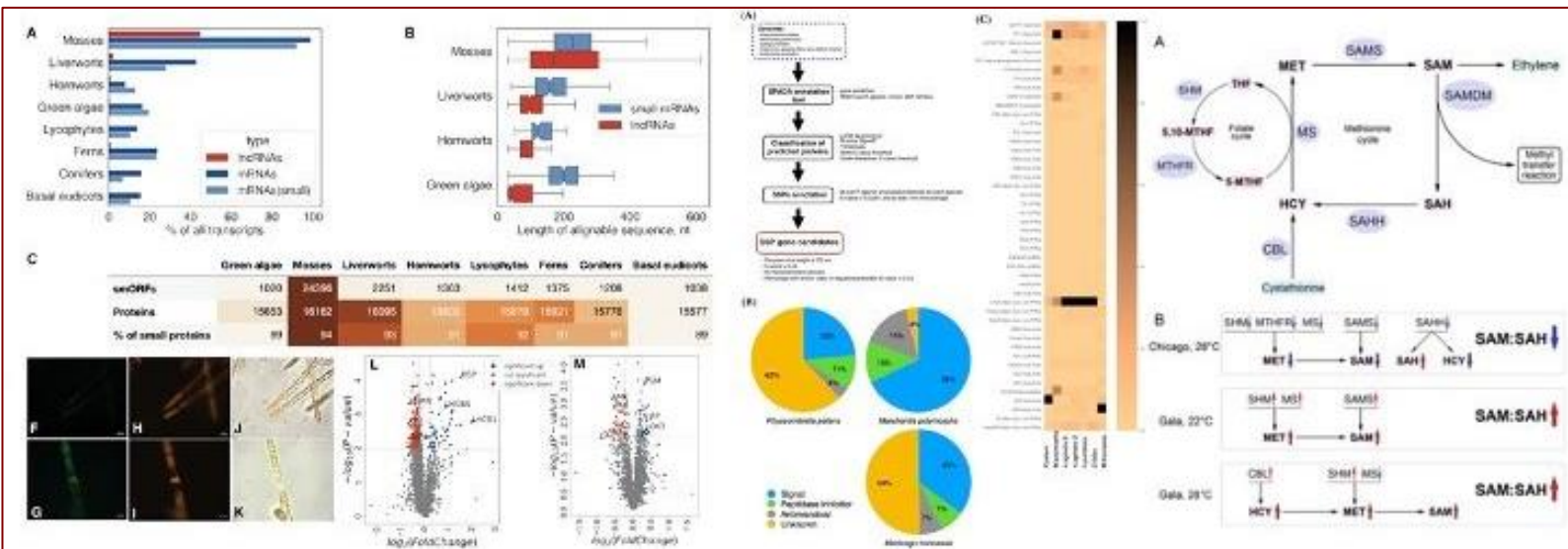
Тимол является вторичным метаболитом растений, для которого показана антифунгальная активность. Данное вещество обладает способностью разрушать клеточную стенку, а также оказывать эффект на синтез эргостерола. Кроме того, ранее была продемонстрирована способность тимолом взаимодействовать и усиливать эффект соединений, ингибирующих токсигенез у плесневых грибов. Однако не вполне понятен был механизм действия тимолом, в частности, эффект, оказываемый на экспрессию ключевых генов, ответственных за процессы роста и развития гриба, а также биосинтез токсинов.

- В настоящей работе объектом исследования стал штамм токсигенного гриба *F. culmorum* OR-02-37, выделенный из зерна пшеницы в Орловской области. Для оценки ингибиторного эффекта культуру гриба выращивали в жидкой среде Миро, стимулирующей токсигенез, в течение 7 суток при 25°C. Для сравнительного анализа уровней относительной экспрессии генов тот же штамм культивировали на твердой среде Миро в течении 5 суток при аналогичных условиях. Рабочая концентрация тимолом, использованная для оценки производимого эффекта, составила 50 ppm. Оценка относительной экспрессии токсигеновых генов (трихотеценовый и зеараленоновый кластеры) проводили с использованием референсного гена, в качестве которого был выбран ген TEF1a. Оценка уровней накопления микотоксинов проводили методом ВЭЖХ с использованием системы Waters 1525 Breeze по методикам, описанным ранее.
- В результате проведенных исследований было продемонстрировано, что обработка тимолом не стимулирует экспрессию соответствующих генов, и, как следствие, не повышает накопление микотоксинов. И для ДОН, и для ЗЕН было выявлено некоторое понижение их уровней накопления в жидкой среде (снижение 10-25 %). Кроме того, показано снижение уровней относительной экспрессии ключевого гена трихотеценового биосинтеза (TRI5) и генов PKS4 и PKS13, связанных с синтезом зеараленона.

Для профилактики и лечения поражений семенного и товарного картофеля мягкогнилостными бактериями *Pectobacterium* и *Dickeya* sp. были созданы методы видовой ПЦР-диагностики патогенов и коллекция охарактеризованных специфических бактериофагов. Эксперименты по обработке посевного материала и клубней в хранилище показали эффективность биозащиты.



1. Bugaeva EN et al. (2021) Use of a specific phage cocktail for soft rot control on ware potatoes: A case study. **Viruses** (IF=5.048, $Q_{wos}2$, SJR=1.828, $Q_{sjr}1$)
2. Lukianova AA et al. (2021) Development of qPCR Detection Assay for Potato Pathogen *Pectobacterium atrosepticum* Based on a Unique Target Sequence. **Plants (Basel)** (IF=3.935, $Q_{wos}1$, SJR=0.892, $Q_{sjr}1$)
3. Miroshnikov KA et al. (2021) Tailed lytic bacteriophages of soft rot pectobacteriaceae. **Microorganisms** (IF=4.128, $Q_{wos}2$, SJR=0.858, $Q_{sjr}2$)
4. Lukianova AA et al. (2021) Quantitative Real-Time PCR Assay for the Detection of *Pectobacterium parmentieri*, a Causal Agent of Potato Soft Rot. **Plants (Basel)** (IF=3.935, $Q_{wos}1$, SJR=0.892, $Q_{sjr}1$)



1. Fesenko I et al. (2021) A vast pool of lineage-specific microproteins encoded by long non-coding RNAs in plants. *Nucleic Acids Res* (IF=16.971, $Q_{wos}1$, SJR=9.008, $Q_{sjr}1$)
2. Spechenkova N et al. (2021) The Resistance Responses of Potato Plants to Potato Virus Y Are Associated with an Increased Cellular Methionine Content and an Altered SAM:SAH Methylation Index. *Viruses* (IF=5.048, $Q_{wos}2$, SJR=1.828, $Q_{sjr}1$)
3. Lyapina I et al. (2021) Possible role of small secreted peptides (SSPs) in immune signaling in bryophytes. *Plant Mol Biol* (IF=4.076, $Q_{wos}1$, SJR=1.448, $Q_{sjr}1$)

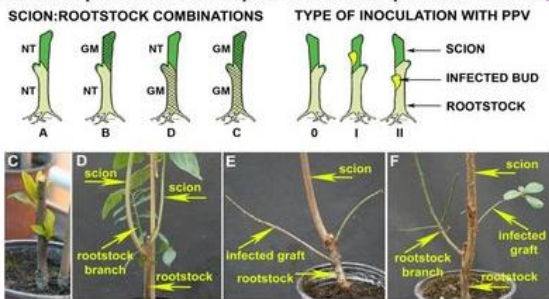
Микробелки, кодируемые короткими рамками считывания, расположенными на длинных некодирующих РНК, традиционно остаются недооцененной частью протеома клетки. Мы провели исчерпывающий поиск транскриптов, кодирующих такие микробелки у мха *P. patens*, классифицировали, исследовали их консервативность и проследили эволюционные траектории в транскриптомах 479 видов растений.

- ❑ Для части выявленных микробелков была показана трансляция и для отдельных микробелков подтверждена биологическая активность.
- ❑ Отдельный интерес представляет эволюция пептидных семейств, регулирующих иммунный ответ. Мы исследовали разнообразие малых секретиремых пептидов у бриофитов и показали, что многие семейства таких пептидов общие у покрытосеменных и наиболее древних наземных растений, а отдельные пептиды цветковых растений индуцируют сходные физиологические реакции у бриофитов.
- ❑ Ещё одной линией защиты растения от патогенов является протеом. Мы выявили, что высокая устойчивость картофеля сорта Гала к заражению Y вирусом картофеля связана с активностью метионинового цикла и накоплением в растении отдельных его метаболитов.

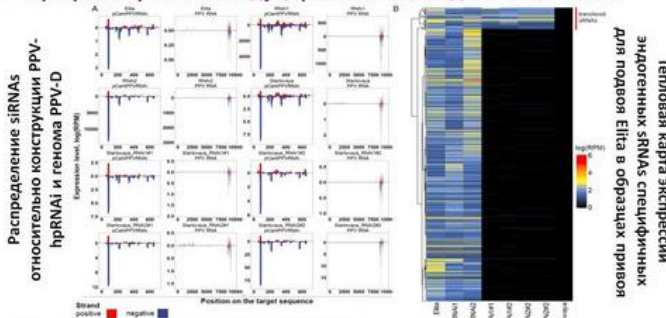
Таким образом, мы провели масштабное исследование эволюции микробелков и пептидов у растений и исследовали роль протеома и пептидома в ответе на биотический стресс.

НИЗКИЙ ТРАНСПОРТ siRNA ОТ ВИРУСОУСТОЙЧИВОГО ТРАНСГЕННОГО ПОДВОЯ В НЕТРАНСГЕННЫЙ ПРИВОЙ НЕ ОБЕСПЕЧИВАЕТ УСТОЙЧИВОСТЬ К РРV У ДЕРЕВЬЕВ СЛИВЫ

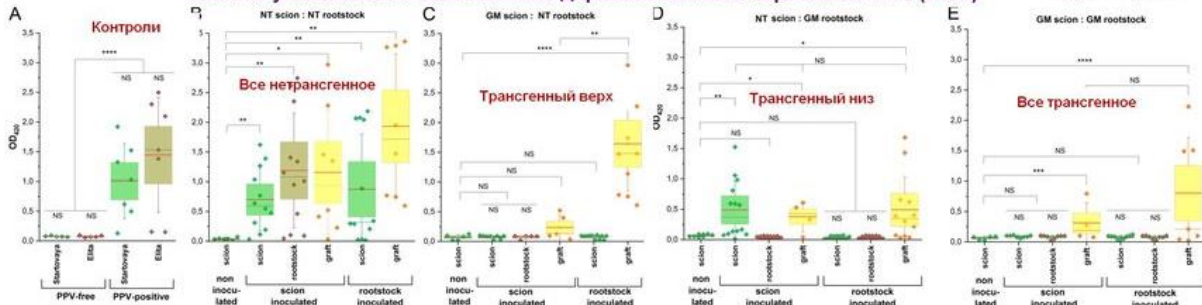
Прививка нетрансгенного сорта сливы на трансгенный подвой



Профиль трансген-индуцированных и эндогенных sRNAs



Анализ устойчивости композитных деревьев сливы к заражению РРV (ИФА)



Sidorova et al. 2021. *Front Plant Sci.* doi: 10.3389/fpls.2021.621954

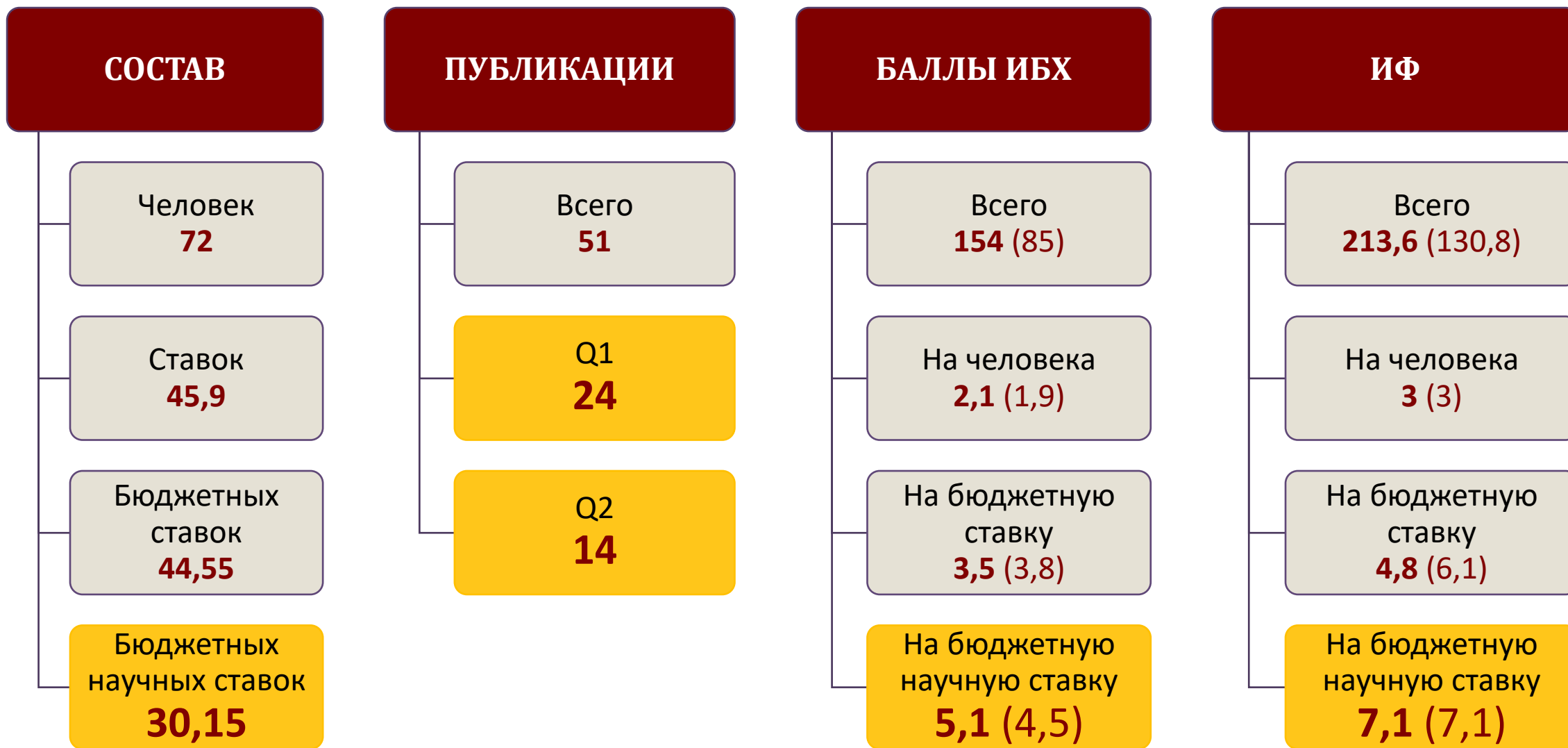
У деревьев косточковых плодовых культур устойчивость к вирусу оспы сливы (PPV) можно достигнуть за счет специфической деградации вирусной РНК с помощью механизма РНК-интерференции (RNAi) благодаря экспрессии шпилечной конструкции, специфичной для белка оболочки РРV. При этом накопление siRNA в трансгенном растении сливы достигает более 2% (от общего числа малых РНК) и обеспечивает многолетнюю невосприимчивость к вирусу. Биобезопасность трансгенных растений, однако, вызывает опасения из-за вставки чужеродных последовательностей. Плодовые деревья представляют собой комбинацию привоя (верх) и подвоя (низ), поэтому прививка коммерческих сортов на трансгенные вирусоустойчивые подвои (трансграфтинг) рассматривалась как возможный подход к смягчению проблем биобезопасности, однако эффективность этого способа требует экспериментального подтверждения.

Нами были созданы различные варианты композитных деревьев, при этом повышенный уровень siRNA в трансгенных тканях обеспечивал устойчивость к РРV и блокировал перемещение вируса через ГМ-ткани в нетрансгенные ткани при инокуляции трансгенных тканей. Несмотря на передвижение большого числа малых РНК из подвоя в привой, транспорт siRNAs необходимых для инактивации РРV оказался низким (только 0.005% пула малых РНК). Поэтому при заражении нетрансгенных тканей (привитых на вирусоустойчивый трансгенный подвой), они по-прежнему оставались восприимчивыми к вирусной инфекции.

Sidorova T et al. (2021) Effect of Grafting on Viral Resistance of Non-transgenic Plum Scion Combined With Transgenic PPV-Resistant Rootstock. *Front Plant Sci* (IF=5.753, Q_{wos}1, SJR=1.752, Q_{sjr}1)



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)

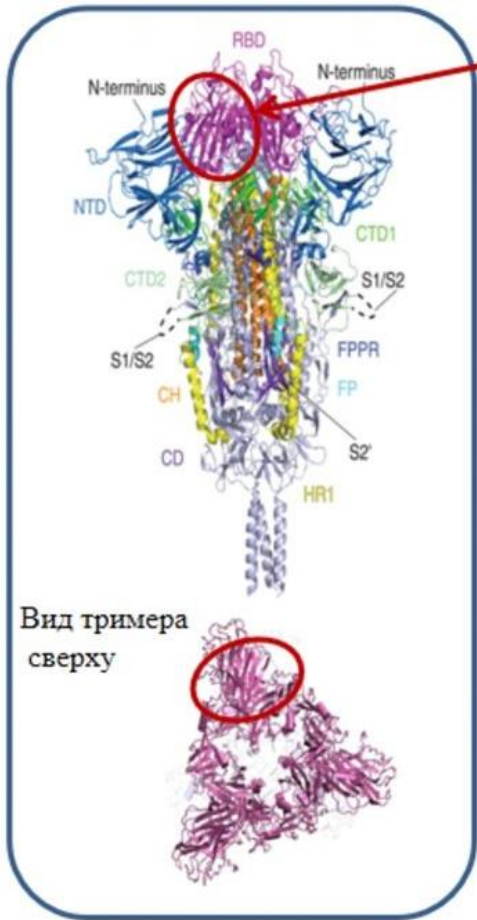
ИФ 70,2

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

ИФ 43,8

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

S-БЕЛОК SARS-CoV-2 УЗНАЕТ ГЛИКАНЫ-ЛИГАНДЫ ГАЛЕКТИНОВ



Галектиновый фолд
коронавирусов;
а.к.111 - 158

Из 10 гликанов эррея, узнаваемых S-белком, 8 оказались типичными лигандами галектинов; то есть мотив **-Galβ1-4GlcNAc** может оказаться дополнительным рецептором SARS-CoV-2. Этот мотив образуется в изобилии под действием нейраминидазы вируса гриппа

10 гликанов эррея, показавших связывание	Лиганд галектина?
GalNAcα1-3(Fucα1-2)Galβ1-3GalNAcβ [A type 4]	Да
Galβ1-4GlcNAcβ1-6(Galβ1-3)GalNAcα [LN6TF]	Да
Galβ1-4GlcNAcβ1-3Galβ1-4GlcNAcβ [LN ₇]	Да
Galβ1-3GalNAcβ1-4Galβ1-4Glcβ [асиало GM1]	Да
Galβ1-4GlcNAcβ1-6Galβ1-4GlcNAcβ [LN6'LN]	Да
Galα1-3(Fucα1-2)Galβ1-3GalNAcβ [B type 4]	Да
GalNAcα1-3(Fucα1-2)Galβ [A _{tri} -C8]	Нет
GlcNAcα1-3GalNAcβ	Нет
Galα1-3Galβ1-4GlcNAcβ	Да
GlcNAcβ1-3Galβ1-4GlcNAcβ	Да

В составе S-белка всех SARS-вирусов имеется т.н. галектиновый фолд, то есть участок высокой гомологии с семейством гликан-связывающих белков семейства галектинов (рис. 1). Однако гликан-связывающей активности этого участка до появления SARS-CoV-2 никто не видел.

- ❑ С помощью гликанового эррея (>200 гликанов) мы изучили углевод-узнающую активность S-белка SARS-CoV-2 и обнаружили, что из нескольких позитивных гликанов максимальное связывание показывают именно те, которые являются классическими лигандами галектинов (таблица, лиганды галектинов даны на сером фоне) (работа проведена совместно с НПО Вектор).
- ❑ Далее, работая уже с цельными вирионами и значительно расширив репертуар гликанов, мы подтвердили узнавание типичных галектиновых лигандов (работа проведена совместно с Институтом гриппа, С.-Пб.).
- ❑ Таким образом, коронавирус имеет потенциальный дополнительный рецептор, углеводной природы. Отметим, что нейраминидаза вируса гриппа, отщепляя от гликанов клетки сиаловую кислоту, тем самым создает очень высокую плотность именно тех структур, которые узнаются коронавирусом SARS-CoV-2

Ryzhikov AB et al. (2021) Recombinant SARS-CoV-2 S Protein Binds to Glycans of the Lactosamine Family *in vitro*. **Biochemistry (Mosc)** (IF=2.487, Q_{wos}4, SJR=0.747, Q_{sjr}2)

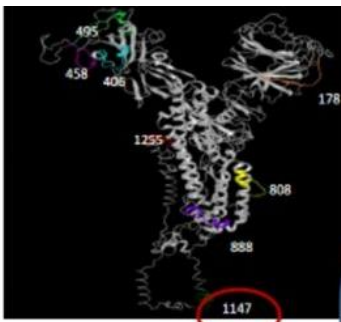


Рис. 1. Эпитоп 1147 расположен в стволе S-белка

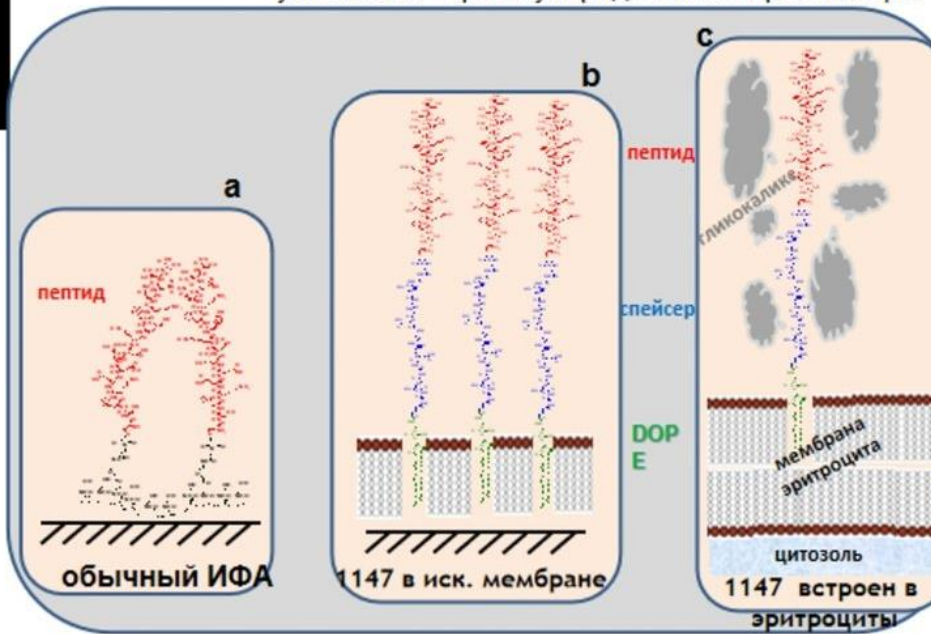


Рис. 2. Только упорядоченное расположение пептида 1147 (b & c) в составе мембраны позволяет антителам из сыворотки крови узнать его. При неупорядоченной презентации

Были синтезированы 8 пептидов S-белка SARS-CoV-2, предсказанные как наиболее антигенные и не экранированные углеводными цепями; они оказались равномерно разбросанными по поверхности белка.

- ❑ Далее было изучено связывание с ними антител лиц, переболевших ковидом-19; оказалось, что единственный «диагностический» эпитоп (т.е. 90% дискриминирующий переболевших от наивных доноров), начинающийся а.к. 1147, расположен в стволовой части белка, то есть очень близко к мембране вириона (см. рисунок 1).
- ❑ Принципиально важной оказалась презентация пептида 1147. Если пептид просто иммобилизован на поверхности, он теряет диагностическую аккуратность. Но в липидированном виде (см. рисунок 2), встроенный в мембрану эритроцит или в искусственную мембрану, приобретает способность выявлять специфические для заболевания антитела.
- ❑ По-видимому, в упорядоченном слое пептид 1147 приобретает спиральную конформацию, близкую к той, что характерна для стволовой части белка.

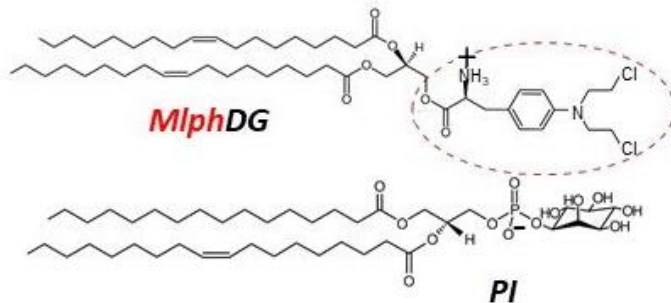
1. Ryzhov IM et al. (2021) SARS-CoV-2 Peptide Bioconjugates Designed for Antibody Diagnostics. *Bioconjug Chem* (IF=4.774, Q_{wos} 1, SJR=1.279, Q_{sjr} 1)
2. Nagappan R et al. (2021) COVID-19 antibody screening with SARS-CoV-2 red cell kodecytes using routine serologic diagnostic platforms. *Transfusion* (IF=3.157, Q_{wos} 3, SJR=1.045, Q_{sjr} 2)

ФОСФАТИДИЛИНОЗИТ СТАБИЛИЗИРУЕТ ЖИДКОФАЗНЫЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ЛИПОСОМЫ, НАГРУЖЕННЫЕ ПРОЛЕКАРСТВОМ МЕЛФАЛАНА

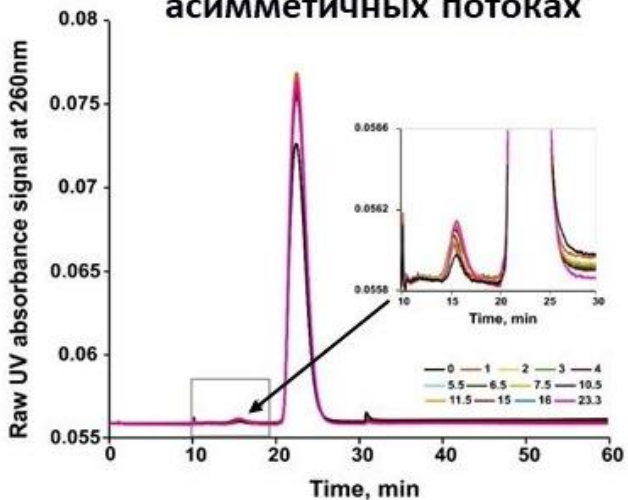


D ~ 100 nm

ePC-MlphDG-PI
9:1:1

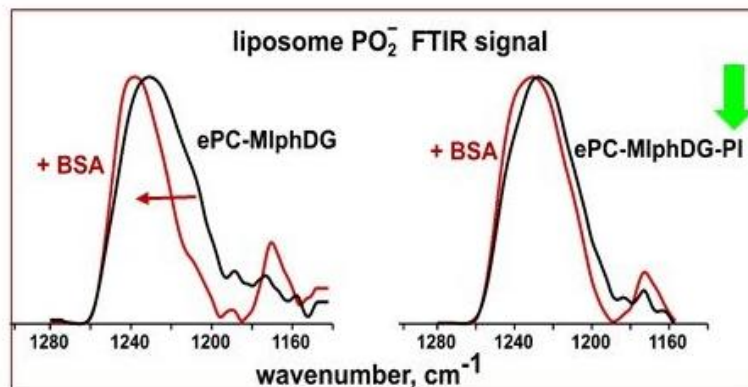


Фракционирование частиц в асимметричных потоках



Перенос MlphDG из липосом в PEG-PE-мицеллы (модель липопротеинов) исчезающе мал

ИК-спектроскопия с преобразованием Фурье



Взаимодействия сывороточного альбумина с жидкофазными противоопухолевыми липосомами, несущими в мембране диолеилглицеридный конъюгат мелфалана (Mlph-DG), исследованы методом ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье.

- ❑ Показано, что фосфатидилинозит защищает мембрану липосом от проникновения белка.
- ❑ Высвобождение пролекарства Mlph-DG из липосом изучено с помощью метода фракционирования частиц в асимметричных потоках (AF4) — в системе, моделирующей взаимодействия с липопротеинами плазмы.
- ❑ Установлена высокая стабильность липосом.
- ❑ Предполагается, что фосфатидилинозит защищает липидный бислой за счет образования «компенсаторной» пары между объемистым отрицательно заряженным остатком мио-инозита и небольшим положительно заряженным остатком лекарства в молекуле Mlph-DG.

1. Onishchenko N et al. (2021) Spotlight on the Protein Corona of Liposomes. *Acta Biomater* (IF=8.947, Q_{wos} 1, SJR=1.944, Q_{sjr} 1)
2. Tretiakova D et al. (2021) Phosphatidylinositol stabilizes fluid-phase liposomes loaded with a melphalan lipophilic prodrug. *Pharmaceutics* (IF=6.321, Q_{wos} 1, SJR=1.054, Q_{sjr} 1)



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





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

ИФ 23,4

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

ИФ 38,2

- **Лаборатория молекулярных основ стрессоустойчивости растений**
Т.Ю. Митюшкина

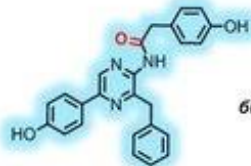
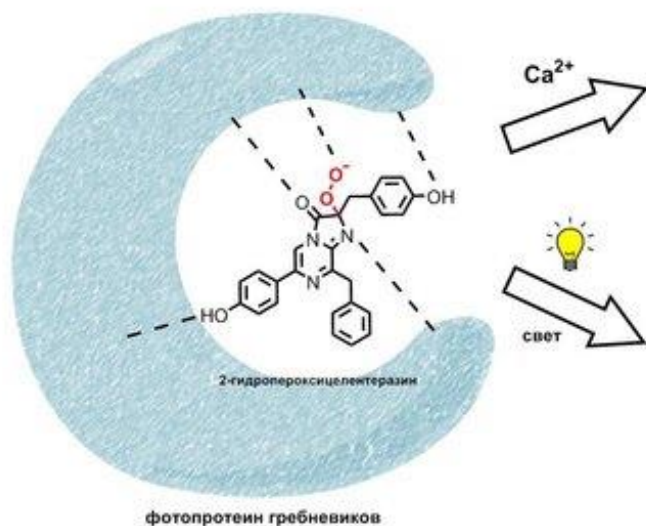
ИФ 24,9

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

ИФ 4,2

- **Лаборатория биотехнологии растений**
Н.С. Захарченко

ПРЕДЛОЖЕН МЕХАНИЗМ ФОТОИНАКТИВАЦИИ ЦЕЛЕНТЕРАЗИНА — ХРОМОФОРА ФОТОПРОТЕИНА ГРЕБНЕВИКА *BEROE ABYSSICOLA*

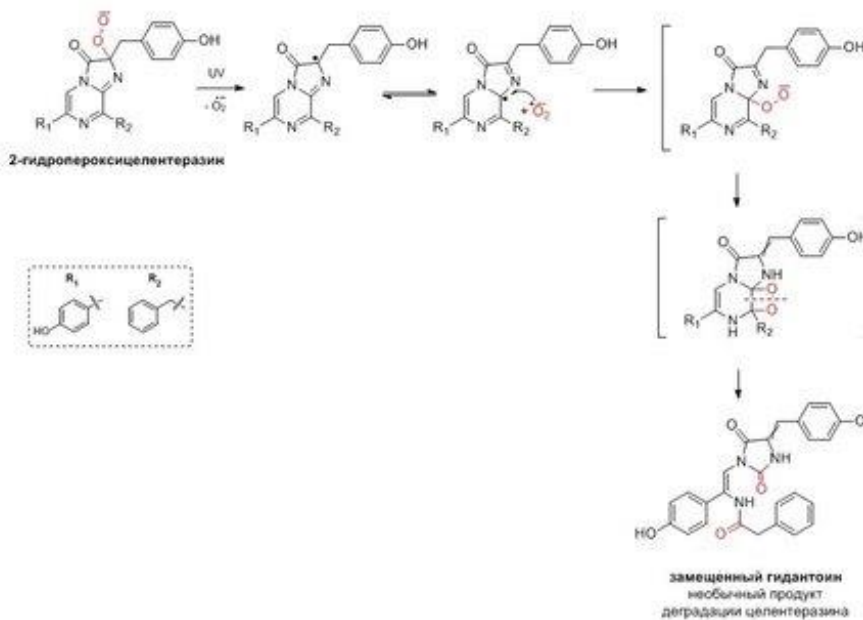


биолюминесценция



фотоинактивация

Механизм фотоинактивации беровина

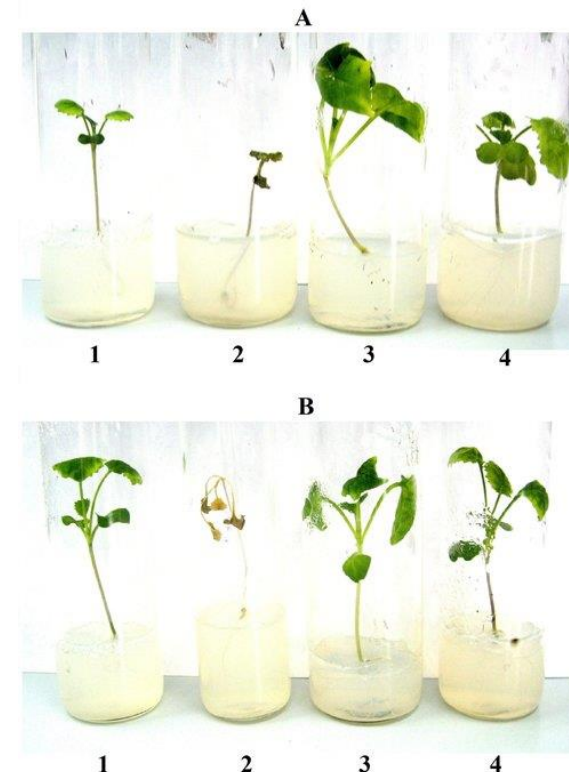


Burakova LP et al. (2021)
Unexpected
Coelenterazine
Degradation Products of
Photoprotein
Photoinactivation. *Org Lett*
(IF=6.005, Q_{wos}1, SJR=1.94,
Q_{sjr}1)

Сотрудниками ИБХ РАН совместно с коллегами из Лаборатории фотобиологии Института биофизики (ИБФ СО РАН, г. Красноярск) впервые были выделены продукты фотоинактивации 2-гидропероксицелентеразина из рекомбинантного фотопротеина *Beroe abyssicola* — беровина. Методами ЯМР и масс-спектрометрии было показано, что продукты фотоинактивации представлены изомерными соединениями, имеющими ту же массу, что и исходный хромофор, однако сильно отличающимися по спектральным свойствам. Сотрудники Лаборатории химии метаболических путей методом встречного синтеза окончательно подтвердили структуру выделенных природных соединений — необычных продуктов деградации целентеразина гидантоиновой природы — и предложили механизм, при котором в ходе фотоинактивации происходит расщепление С-С связи в пиазиновом кольце 2-гидропероксицелентеразина. Похожий механизм расщепления был ранее обнаружен при окислении хромофоров GFP-подобных флуоресцентных белков (Ivashkin et al., 2011). Склонность беровина к фотоинактивации позволяет предполагать, что 2-гидропероксицелентеразин в белке, в отличие от гидроидных фотопротеинов, координирован в форме аниона.

Целью работы явилось изучение возможности колонизации трансгенных растений масличного рапса (*Brassica napus* L.), экспрессирующих ген антимикробного пептида цекропина P1 (*cecP1*), ассоциативными микроорганизмами *Methylobacterium mesophilicum* и *Pseudomonas aureofaciens*.

- ❑ Продемонстрирована устойчивость растений к фитопатогенам *Erwinia carotovora* B15, *Pseudomonas syringae*, *Fusarium oxysporum* и *Botrytis cinerea*.
- ❑ Анализ жирнокислотного состава семян трансгенных растений показал увеличение доли ненасыщенных жирных кислот.
- ❑ Растения показали повышенную фотосинтетическую активность при окислительном стрессе, вызванном паракватом, а не при окислительном стрессе и УФ-излучении по сравнению с контролем.
- ❑ Колонизация растений метиловыми бактериями привела к увеличению скорости роста, образования корней и адаптации к тепличным условиям. *CecP1*-растения, колонизированные бактериями *P. aureofaciens* с устойчивостью к нафталину, смогли стабильно расти на среде, содержащей это химическое соединение.
- ❑ Исследование взаимодействия трансгенных растений с ассоциативными микроорганизмами показало, что бактерии локализованы во всех первоначально колонизированных растениях, а также в растениях, полученных после нескольких пассажей микропролиферации.
- ❑ Таким образом, трансгенные растения, содержащие ген *cecP1*, активно заселялись ассоциативными бактериями, что указывает на их безопасность для полезных микроорганизмов.



Растения рапса на среде МС с нафталином
 А – нетрансгенные растения.
 Б – трансгенные растения линии № 1.
 1 – неколонизированное растение, нормальный рост;
 2 – неколонизированное погибшее растение на среде с 1 мг/л нафталина;
 3 – колонизированное растение, нормальный рост;
 4 – колонизированное растение на среде с 1 мг/л нафталина, нормальный рост.

Zakharchenko NS et al. (2021) The *Brassica napus* L. plants expressing antimicrobial peptide cecropin P1 are safe for colonization by beneficial associative microorganisms. *J Plant Interact* (IF=4.208, Q_{wos} 1, SJR=0.964, Q_{sjr} 1)



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





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

ИФ 45,6

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

ИФ 35,3

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

ИФ 16,8

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

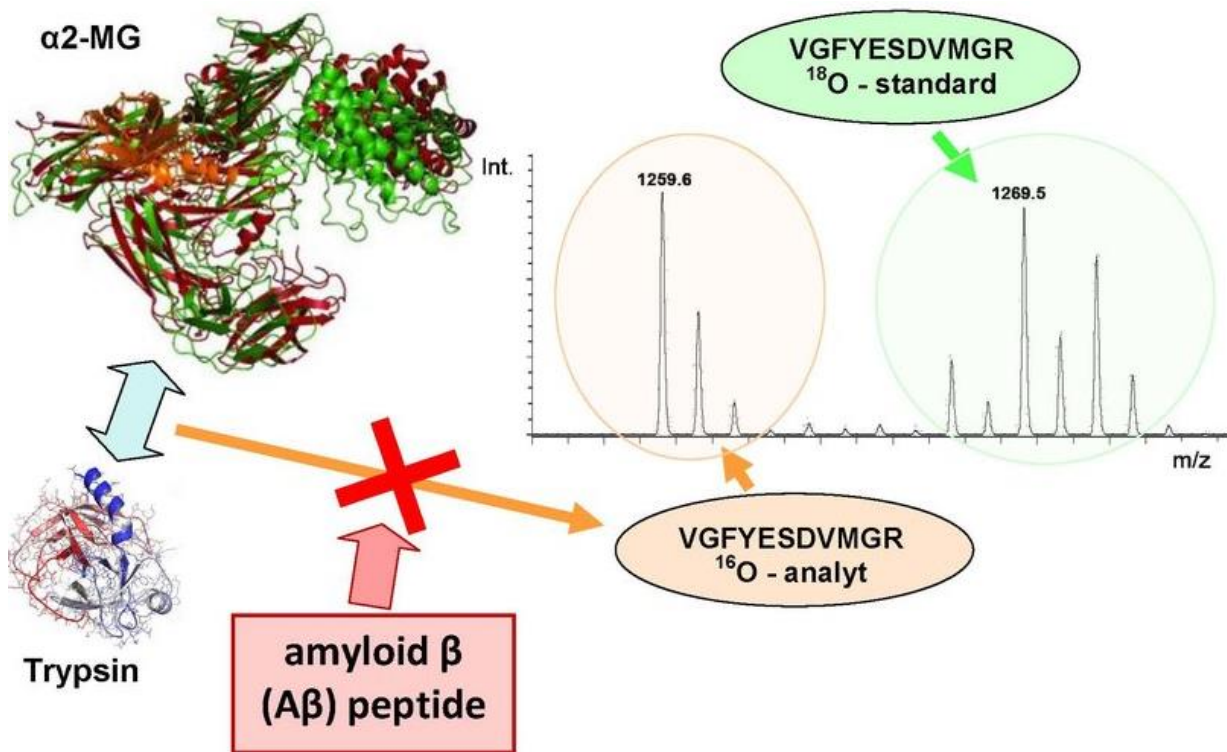
ИФ 7,1

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

ИФ 6,1

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

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В ИССЛЕДОВАНИЯХ АГРЕГАЦИИ ПЕПТИДОВ АЛЬЦГЕЙМЕРА (β -АМИЛОИДОВ) АЗОЛОАЗИНАМИ, А ТАКЖЕ ВЛИЯНИЯ ЭТИХ ПЕПТИДОВ НА ПОВЕДЕНИЕ α -2-МАКРОГЛОБУЛИНОМ

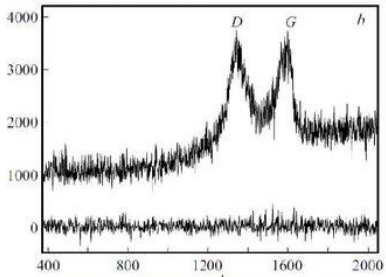
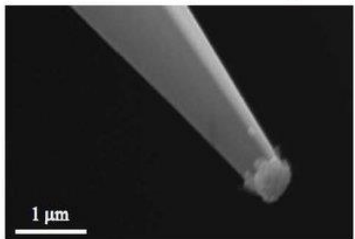


Protasov AV et al. (2021) A mass spectrometric approach to study the interaction of amyloid β peptides with human α -2-macroglobulin. *Biochimie* (IF=4.079, Q_{wos} 2, SJR=1.254, Q_{sjr} 1)

Mirgorodskaya OA et al. (2018) Regulation of Aggregation of Self-Associated Peptides, Including N-Terminal Fragments of the Alzheimer's β -Amyloid Peptide, by Nitro Derivatives of Azoloazine. *Russ. J. Bioorganic Chem.* (IF=0.796, Q_{wos} 4, SJR=0.228, Q_{sjr} 4)

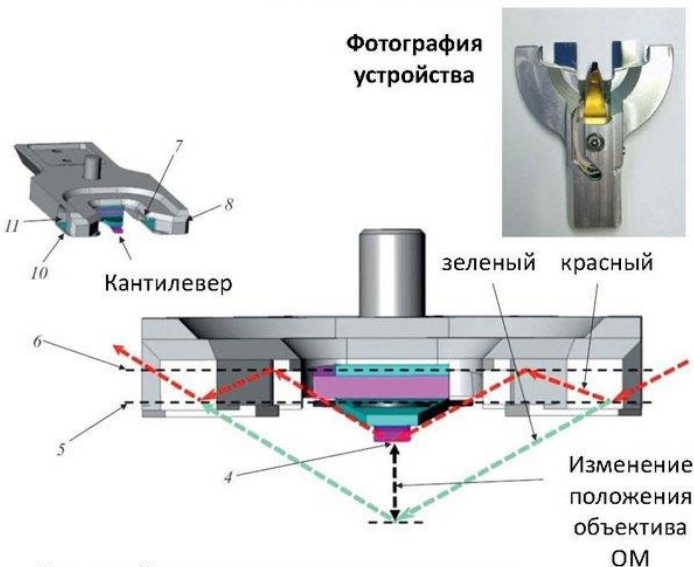
- Предложен эффективный метод определения свободного α -2-макроглобулина (α -2-MG) в сыворотке крови человека, основанный на его реакции с трипсином, приводящей к отщеплению короткого пептида (VGFYESDVMGR). Для количественного определения содержания этого пептида был развит масс-спектрометрический метод, основанный на изотопно-меченного (^{18}O) стандарта.
- Изучено взаимодействие человеческого α -2-MG с пептидами Альцгеймера ($A\beta$ -пептиды). Впервые обнаружен эффект блокировки отщепления пептида VGFYESDVMGR от α -2-макроглобулина в присутствии пептидов Альцгеймера и исчезновение этого эффекта в случаях модификации последних. Выявлен участок в пептидах Альцгеймера, разрыв пептидной связи в котором или его модификация приводит к потере их способности ингибировать реакцию трипсина с α -2-макроглобулином.
- Обнаружено, что нитро-соединения из класса азолазинов способны выступать в качестве регуляторов агрегации природных пептидов, склонных к самоассоциации, на примере фрагментов β -амилоидного пептида Альцгеймера. Показано, что в зависимости от типа производного азолазина, происходит либо ассоциация пептида с образованием нерастворимой формы, либо подавление ассоциации, вплоть до растворения ранее образовавшегося ассоциата.

СЭМ-изображение острия СЭМ-кантилевера для микроскопа с зондовым усилением КР. Ag-наночастицы, локализованы только на вершине зонда.



Спектр КР оксида графена, полученный с использованием кантилевера с зондовым усилением КР (сверху) и при удалении зонда от образца

НИЗКОПРОФИЛЬНЫЙ ДЕФЛЕКТОМЕТР ДЛЯ СКАНИРУЮЩЕЙ ЗОНДОВОЙ И ОПТИЧЕСКОЙ МИКРОСКОПИИ



Ход лучей при использовании перископа (красный)

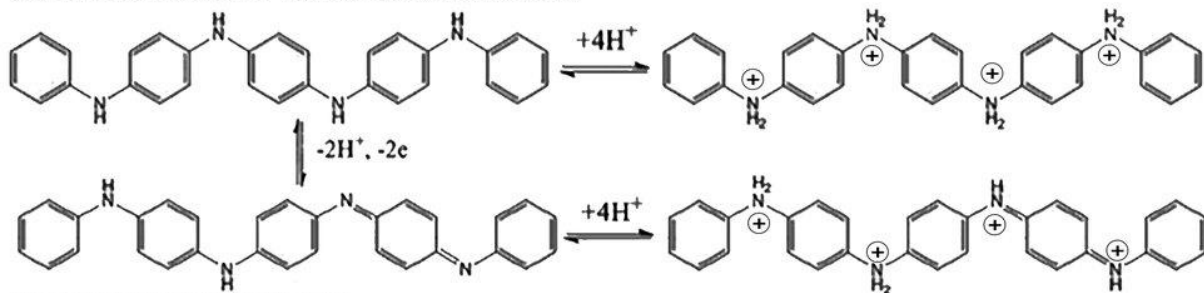
Ход лучей в немодифицированной системе (зеленый)

- Разработана методика формирования зондов для зондово-усиленной КР спектроскопии. Решена задача получения воспроизводимых практически одинаковых, с воспроизводимыми характеристиками, механически устойчивых зондов с высокой эффективностью получения сигнала КР от молекул, локализованных вблизи вершины зонда.
- Решена проблема доставки электромагнитного излучения к кантилеверу сканирующего зондового микроскопа. Реализованная схема позволила существенно уменьшить расстояние между объективом и образцом, что увеличило числовую апертуру объектива. При реализации методики зондово усиленного КР это обеспечивает почти двукратное увеличение эффективности системы возбуждение/сбор вторичного излучения.

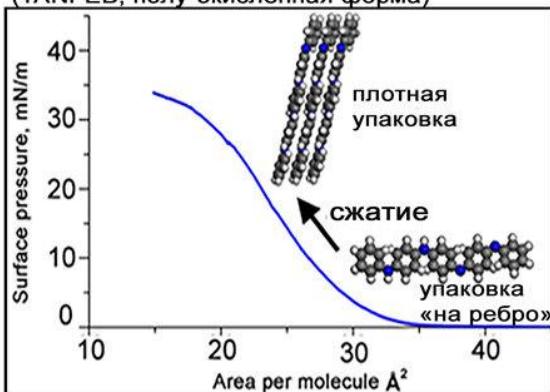
- Мочалов KE et al. (2020) Высокоэффективные воспроизводимые зонды для спектроскопии комбинационного рассеяния с усилением на острие (TERS). *Письма ЖТФ* ($IF=$, Q_{wos} , $SJR=$, Q_{sjr})
- Мезин АВ et al. (2021) Разработка системы низкопрофильного дефлектометра комбинированных систем сканирующей зондовой и оптической микроскопии. *Письма ЖТФ* ($IF=$, Q_{wos} , $SJR=$, Q_{sjr})
- Трусов МА et al. (2021) Моделирование оптимальной оптической системы ввода/вывода излучения для реализации эффективного зондового усиления электромагнитного поля для случая непрозрачных образцов. *Письма ЖТФ* ($IF=$, Q_{wos} , $SJR=$, Q_{sjr})

Тетраанилин с концевыми фенильными группами (TANI)

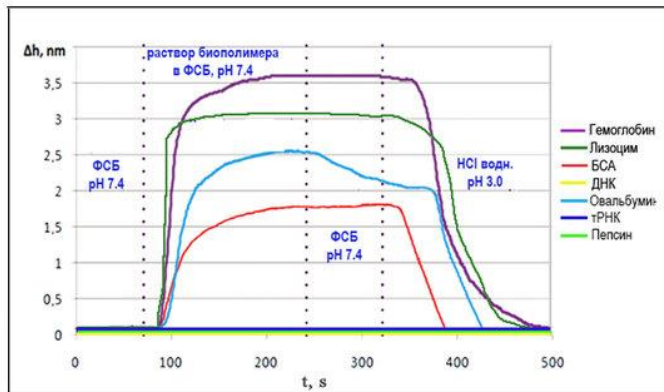
Лейкоэмеральдиновое основание
(TANI-LEB, полностью восстановленная форма)



Эмеральдиновое основание
(TANI-EB, полу-окисленная форма)



Изотерма поверхностного натяжения пленок Ленгмюра TANI-EB. Пленки сформированы с использованием водной субфазы из раствора ДМСО:толуол (1:1, об/об) при 20°C.



Динамика сорбции биополимеров на поверхности стеклянной пластины покрытой TANI-EB. Сенсограммы были получены с помощью одноканального спектрально-фазового интерферометра Пикоскоп®

В работе представлены результаты исследования физико-химических свойств молекул тетраанилина с концевыми фенильными группами (TANI), которые являются проводящими производными полианилина (ПАНИ) с наименьшей молекулярной массой по сравнению с ПАНИ, а также пленок на основе TANI. Самоорганизованные тонкопленочные структуры TANI с четко определенной морфологией получали путем переноса пленок Ленгмюра, сформированных на границе раздела вода-воздух.

- ❑ На примерах разделения смесей нуклеиновых кислот и белков методом спектрально-корреляционной интерферометрии было показано, что поведение TANI в качестве биосепарационного материала аналогично поведению ПАНИ.
- ❑ TANI-поверхность демонстрирует сорбционную инертность по отношению к динуклеотидным нуклеиновым кислотам («негативная селекция») и связывает белки в зависимости от их изоэлектрических точек и гидрофобности («позитивная селекция»).
- ❑ Обнаруженные свойства TANI позволяют рассматривать данный материал как перспективную альтернативу ПАНИ-содержащим покрытиям для создания хроматографических материалов с контролируемыми сорбционными свойствами по отношению к макромолекулам нуклеиновых кислот и белков.

Yagudaeva EY et al. (2021) Tetramer of aniline as a structural analog of polyaniline – Promising material for biomedical application.

Synth Met (IF=3.266, Q_{wos}2, SJR=0.672, Q_{sjr}1)

НАНОЧАСТИЦЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИ-N-ВИНИЛПИРРОЛИДОНА, ЗАГРУЖЕННЫЕ ДНК- ПЛАЗМИДАМИ, КОТОРЫЕ КОДИРУЮТ Gn AND Gc ГЛИКОПРОТЕИНЫ ВИРУСА ЛИХОРАДКИ ДОЛИНЫ РИФТ: ПОЛУЧЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ В МОДЕЛИ *IN VIVO*

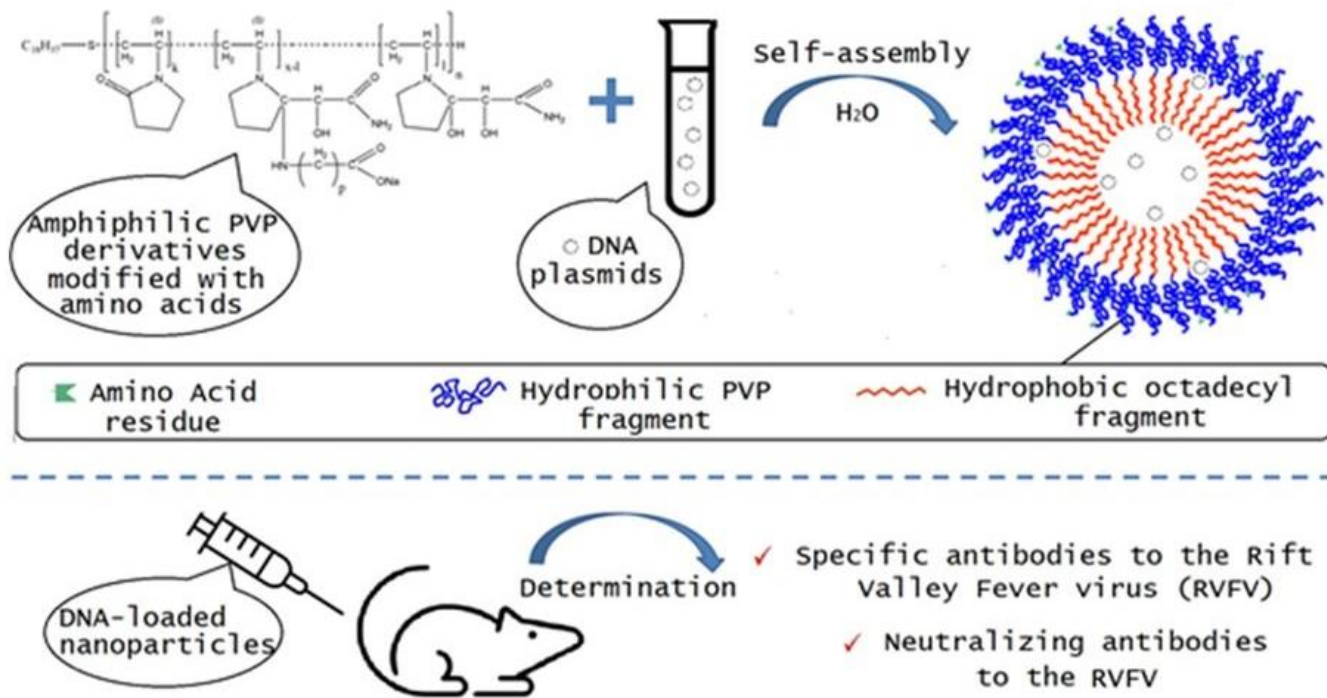
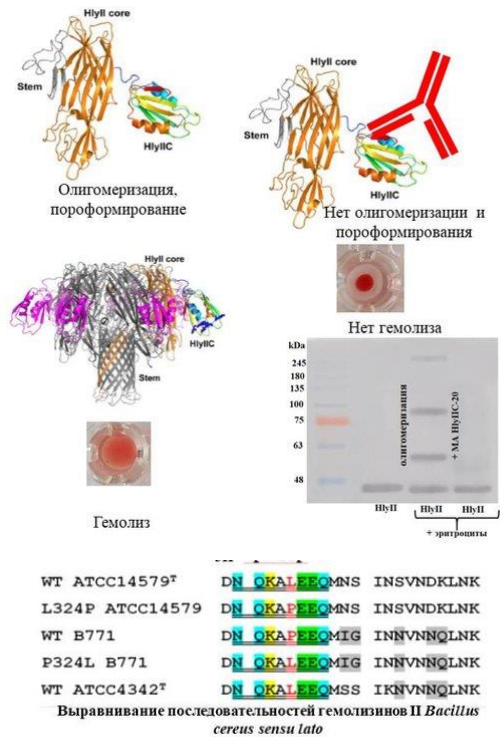


Рис. 1. Наночастицы из модифицированного аминокислотами поли-N-винилпирролидона, загруженные ДНК-плазмидами, кодирующими Gn and Gc гликопротеины вируса лихорадки долины Рифт (DNA particulate vaccines).

Kuskov A et al. (2021) Amphiphilic Poly(N-Vinylpyrrolidone) Nanoparticles Loaded with DNA Plasmids Encoding Gn and Gc Glycoproteins of the Rift Valley Fever Virus: Preparation and in Vivo Evaluation. *ACS Applied Bio Materials* (IF=0, Q_{wos} 0, SJR=0.764, Q_{sjr} 1)

Нами был разработан новый подход к созданию ветеринарной вакцины, защищающей крупных домашних животных от тяжелого вирусного заболевания – лихорадки долины Рифт. В работе были получены амфифильные наночастицы на основе поливинилпирролидона (ПВП), которые были загружены ДНК плазмидами, кодирующими Gn and Gc гликопротеины вируса. ДНК-плазмиды были защищены от расщепления внеклеточными нуклеазами путем их включения в наночастицы из производных ПВП с аминокислотами β -аланин или глицин. При этом наночастицы были получены простым оригинальной методом самосборки полимерных макромолекул. Гуморальный ответ на включенные в наночастицы плазмиды был изучен *in vivo*.

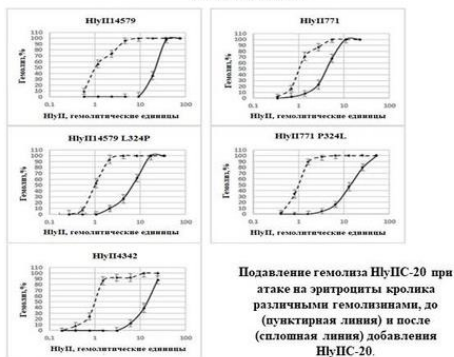
□ Показано усиление гуморального ответа в мышах, которые были иммунизированы наночастицами, по сравнению с ответом, полученным в животных при введении им нативных плазмид. ПВП наночастицы, загруженные плазмидами, перспективны для разработки на их основе различных инкапсулированных ДНК вакцин.



Bacillus cereus – патогенная, грамположительная, обитающая в почве бактерия, вызывающая пищевые отравления и другие типы инфекций, является одной из наиболее распространенных причин внутрибольничных инфекций. Одним из главных факторов патогенности *B. cereus* является гемолизин II (HlyII) – β-пороформирующий токсин, который отличается от других β-пороформирующих токсинов наличием на С-конце молекулы аминокислотной избыточности из 94 остатков, условно обозначаемой как HlyIICTD (С-терминальный домен). Этот белок продуцируется бактерией как мономер, но в присутствии мембраны клеток инфицированного организма момеры токсина соединяются, встраиваются в клеточную мембрану и образуют пору, нарушая целостность клетки.

□ Анализ панели моноклональных антител к рекомбинантному белку HlyIICTD выявил способность антитела HlyIIС-20 ингибировать гемолиз HlyII. Методами фагового дисплея и направленного мутагенеза генов природных токсинов близких штаммов определен конформационный эпитоп нейтрализующего антитела HlyIIС-20. Эпитоп локализован в N-концевой части HlyIICTD. Показано, что HlyIIС-20 связывается с HlyII в мономерной форме до начала стадии пороформирования, предотвращая олигомеризацию, необходимую для образования мембранной поры. Эффективность подавления гемолиза, вызванного различными штаммами *B. cereus*, была различной и зависела от аминокислотного состава эпитопа. Замены L324P и P324L в гемолизинах штаммов ATCC14579T и B771, соответственно, выявили роль лейцина, локализованного в эпитопе, в подавлении гемолиза антителом. Нейтрализующая способность антитела подтверждена экспериментами как *in vitro*, так и *in vivo*. Предварительная инкубация HlyIIС-20 с HlyII предотвращала гибель мышей вплоть до эквимольного соотношения.

□ Стратегия обнаружения и нейтрализации токсической активности HlyII может предоставить инструмент для мониторинга и снижения патогенности *B. cereus*.



Rudenko NV et al. (2020) A Monoclonal Antibody against the C-Terminal Domain of *Bacillus cereus* Hemolysin II Inhibits HlyII Cytolytic Activity. *Toxins (Basel)* (IF=4.546, Q_{wos} 1, SJR=1.047, Q_{sjr} 1)

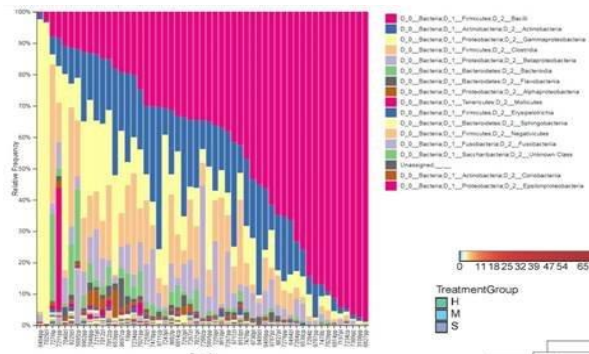


Рис. 1. Относительная численность основных бактериальных групп присутствующих в образцах молока

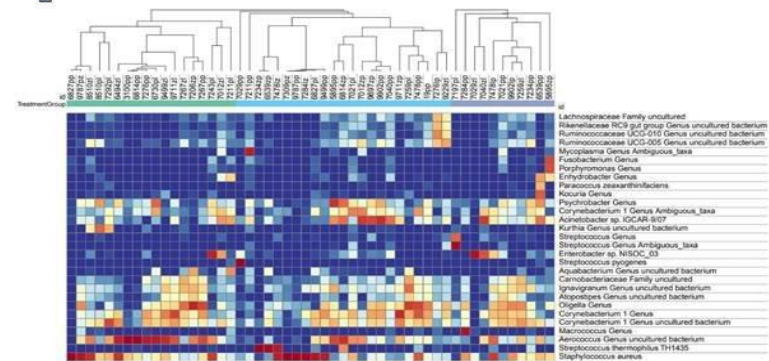
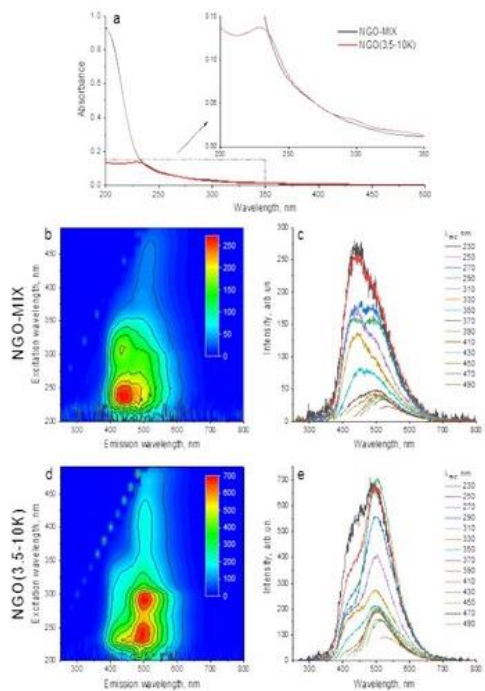


Рис. 2. Наиболее распространенных ОТЕ в образцах молока. Аннотации в верхней части карты показывают кластеризацию образцов молока. Цветовая шкала отображает нормализованное относительное обилие каждого ОТЕ.

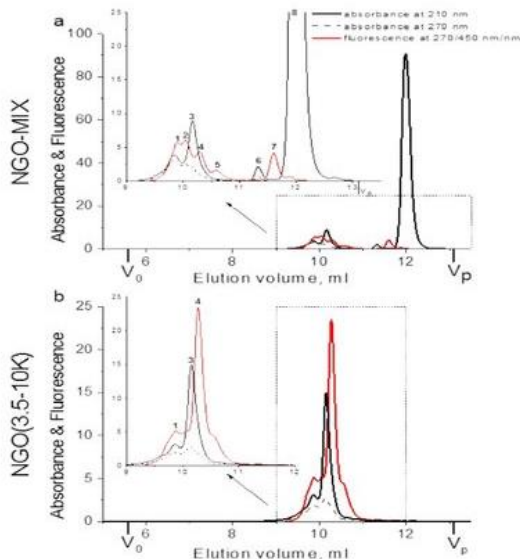
1.Sokolov S et al. (2021) Comparative Analysis of Milk Microbiomes and Their Association with Bovine Mastitis in Two Farms in Central Russia. ***Animals (Basel)*** (IF=2.752, Q_{wos}1, SJR=0.584, Q_{sjr}1)
 2.Fursova KK et al. (2021) Changes in the Microbiome of Milk in Cows with Mastitis. ***Dokl Biochem Biophys*** (IF=0.788, Q_{wos} 4, SJR=0.263, Q_{sjr}3)

Изучение микробных сообществ является современным подходом для профилактики и терапии многих заболеваний. На современном этапе широко используются комплексные омиксные технологии, позволяющие исследовать полный состав флоры и сделать предположения о связи объекта и запускаемого им процесса. Проблема мастита крупного рогатого скота остается актуальной на сегодняшний день, как с экономической, так и с ветеринарной стороны.

- ❑ Целью работы было провести анализ изменений в составе микробиоты молока коров при заболевании маститом на фермах Российской Федерации.
- ❑ Проведен микробиомный анализ образцов молока здоровых коров и коров с различными формами мастита. Выявлено значительное преобладание нескольких операционных таксономических единиц, соответствующих преимущественно группам *Staphylococcus aureus*, *Aerococcus spp.* и *Streptococcus spp.* Кроме того, *S. thermophilus* был идентифицирован в нескольких образцах.
- ❑ Показано, что в Центральной России мастит связан с большим разнообразием возбудителей. Величина эффекта линейного дискриминантного анализа подтвердила наличие нескольких индикаторных родов в хозяйствах Москвы и Тульской области.
- ❑ Эти результаты подтверждают сложную бактериальную этиологию мастита крупного рогатого скота на территории РФ



I стадия Анализ спектров поглощения и флуоресценции смесей углеродных наноточек



II стадия ЭХ-ВЭЖХ смесей углеродных наноточек с онлайн детекцией поглощения и флуоресценции

Trubetskaya OE et al. (2021) High-performance size exclusion chromatography with online fluorescence and multi-wavelength absorbance detection for isolation of high-purity carbon dots fractions, free of non-fluorescent material. *J Chromatogr A* (IF=4.759, Q_{wos} 1, SJR=1.011, Q_{sjr} 1)

В настоящее время во всем мире большое внимание уделяется исследованию недавно обнаруженным наноматериалам, называемых углеродными квантовыми точками (УТ), которые наряду с естественной биосовместимостью обладают стабильной интенсивной флуоресценцией, чувствительной к изменениям окружающей среды. Эти свойства открывают широкие перспективы использования УТ в качестве оптических сенсоров различных примесей в жидких и газовых средах, а также как тераностические наноконструкции, действующие одновременно как люминесцентные биомаркеры и носители лекарств. Однако природа УТ, в частности их молекулярный размер и степень чистоты (т.е. доля различных нефлуоресцирующих компонентов) практически не известны.

- ❑ Нами впервые была разработана методика высокоэффективной эксклюзивной жидкостной хроматографии (ЭХ-ВЭЖХ) в сочетании с мультиволновыми детекторами флуоресценции и абсорбции для разделения и оценки молекулярных размеров УТ, полученных окислением графена, и рассчитан квантовый выход отдельных индивидуальных фракций УТ.
- ❑ Впервые было обнаружено, что лишь небольшая часть исходного оксида графена обладает флуоресценцией.
- ❑ Предложенный метод позволяет получать наборы УТ с характеристическими спектрами поглощения и флуоресценции и высоким квантовым выходом.
- ❑ Метод позволяет эффективно отделять флуоресцирующие фракции УТ от нефлуоресцирующих примесей, что принципиально важно для практического использования УТ в качестве биомаркеров в медицине.



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





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

ИФ 18,5

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

ИФ 31,9

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

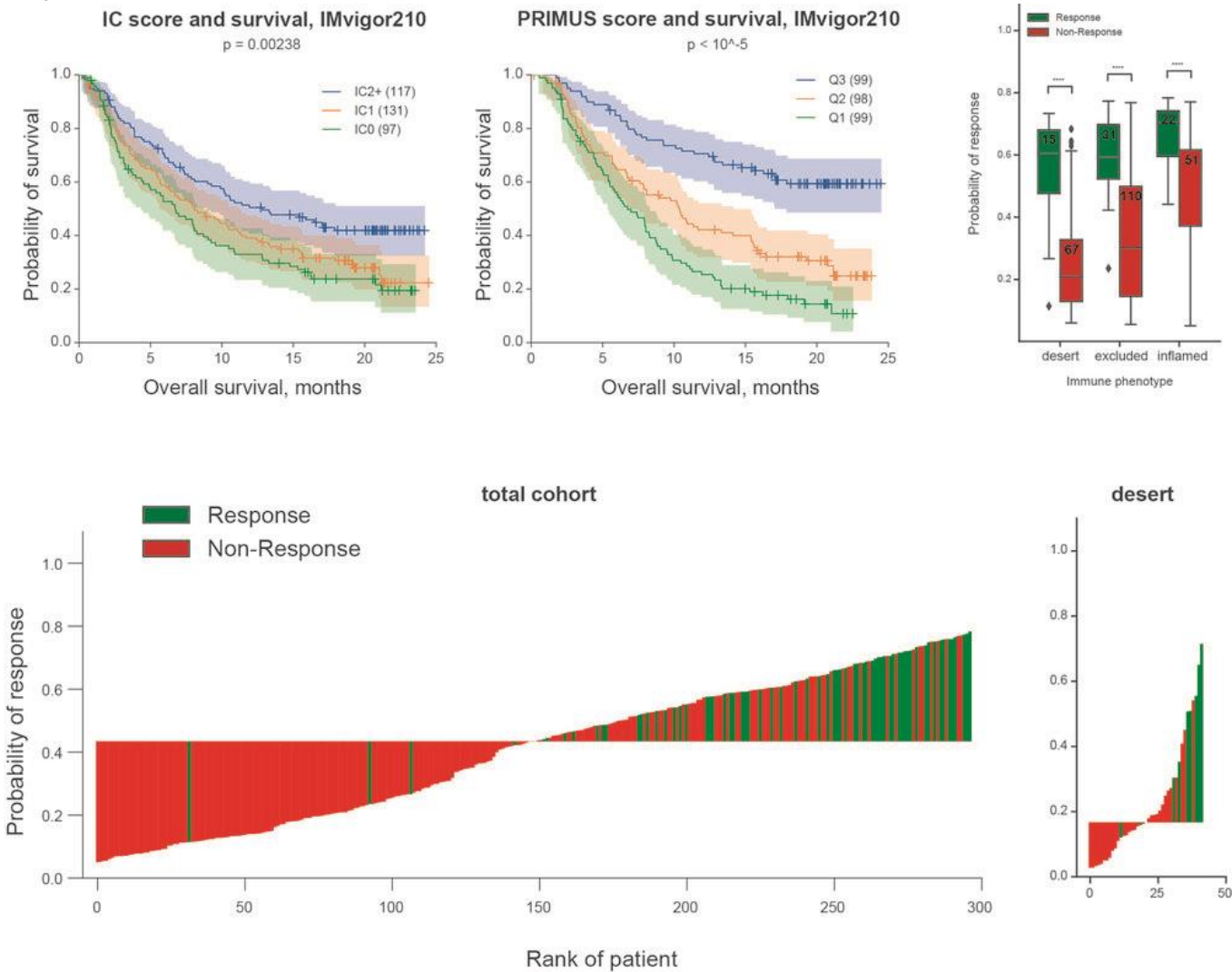
ИФ 5,4

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

ИФ 78,9

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

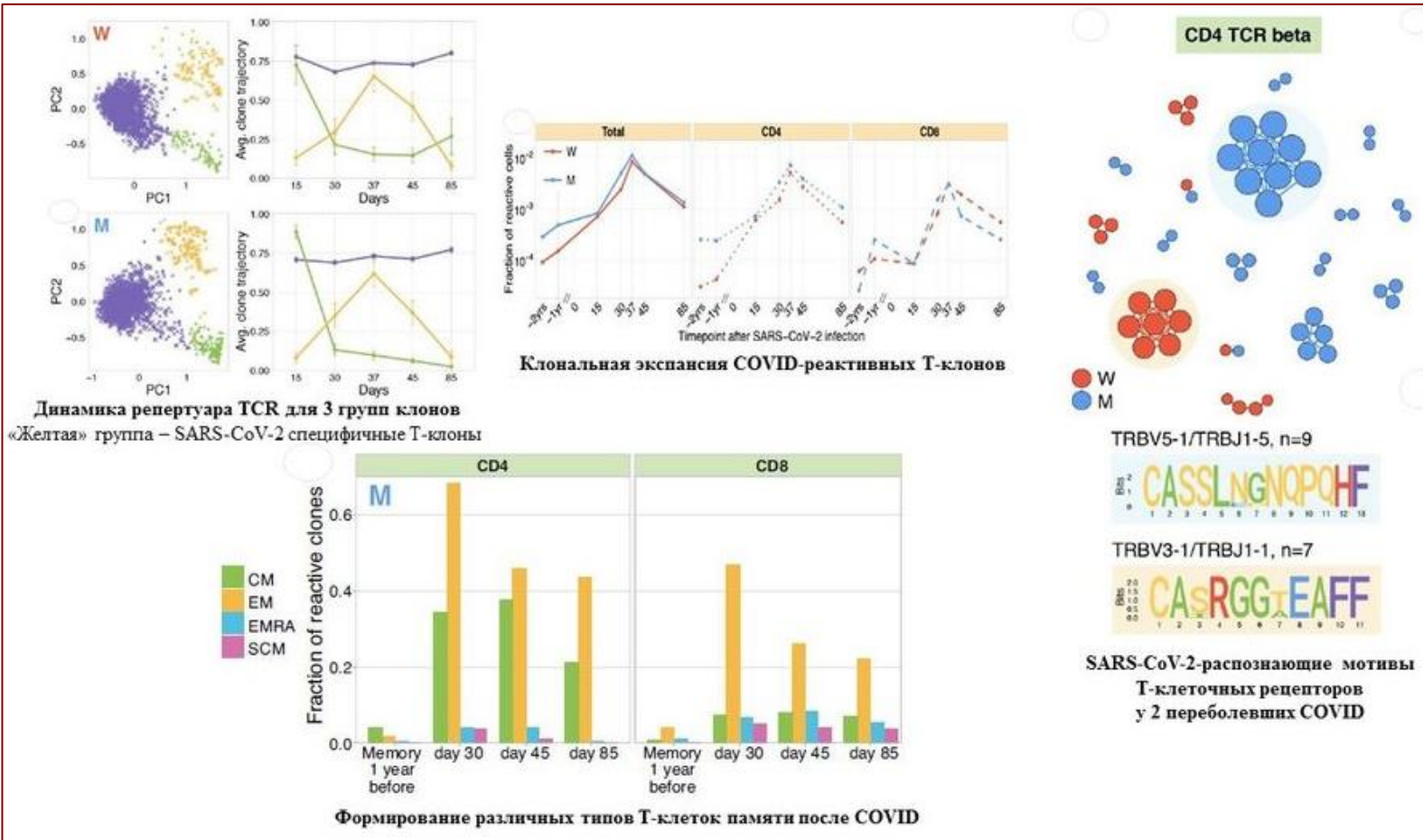
ПРЕДИКЦИЯ ОТВЕТА НА АНТИ-PD-L1 ИММУНОТЕРАПИЮ ПРИ РАКЕ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ



- Показано, что нормировка цитотоксической сигнатуры на степень инфильтрации опухоли иммунными клетками драматически увеличивает точность предикции ответа на анти-PD-L1 иммунотерапию.
- Показано, что соотношение IgG1/IgA экспрессии в опухолевом окружении является важным и независимым прогностическим и предиктивным маркером ответа на анти-PD-L1 иммунотерапию.
- Разработан предиктор ответа анти-PD-L1 иммунотерапию, позволяющий надежно идентифицировать респондеров среди пациентов с инвазивной уротелиальной карциномой, включая подгруппу с низкоинфильтрированным “desert” фенотипом опухоли.

Дюгай ИА et al. (2021) Accounting for B cell behavior and sampling bias predicts anti-PD-L1 response in bladder cancer.

***Cancer Immunol Res* (IF=11.151, Q_{wos} 1, SJR=4.976, Q_{sjr} 1)**



Мы применили массированное секвенирование Т-клеточных рецепторов (TCR) для отслеживания изменений в репертуаре Т-клеток после двух легких случаев COVID-19. У обоих доноров мы идентифицировали клоны CD4 + и CD8 + Т-клеток с высокой клональной экспансией после заражения.

- ❑ Антигенная специфичность CD8 + TCR к эпитопам SARS-CoV-2 была подтверждена как связыванием с тетрамером pMHC, так и структур найденных нами TCR с TCR, присутствующих в международных базах данных SARS-CoV2-специфичных TCR.
- ❑ Мы описываем характерные мотивы в CDR3-последовательностях TCR Т-клонов, реагирующих на COVID-19.
- ❑ Мы показываем, что у обоих доноров большинство инфекционно-реактивных клонотипов приобретают фенотипы памяти.
- ❑ Определенные клоны Т-клеток были обнаружены во фракции памяти в момент времени до заражения, что свидетельствует об участии ранее существовавших перекрестно-реактивных Т-клеток памяти в иммунном ответе на SARS-CoV-2.

Minervina AA et al. (2021) Longitudinal high-throughput TCR repertoire profiling reveals the dynamics of T-cell memory formation after mild COVID-19 infection.

***Elife* (IF=8.14, Q_{wos}1, SJR=5.879, Q_{sjr}1)**



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





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

ИФ 68,8

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

ИФ 65

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

ИФ 29,3

- **Лаборатория молекулярной вирусологии**
Ю.П. Рубцов

ИФ 14

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

ИФ 78

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

ИФ 35,5

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

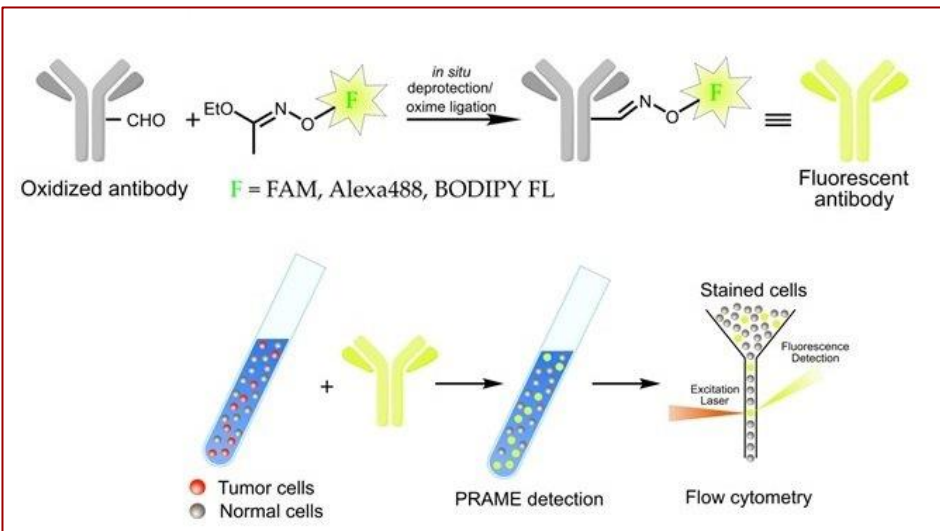
ИФ 8,9

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

ИФ 29,2

- **Группа химии природных соединений**
А.А. Михайлов

ОКСИМНОЕ ЛИГИРОВАНИЕ ДЛЯ САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКОГО МЕЧЕНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМИ КРАСИТЕЛЯМИ

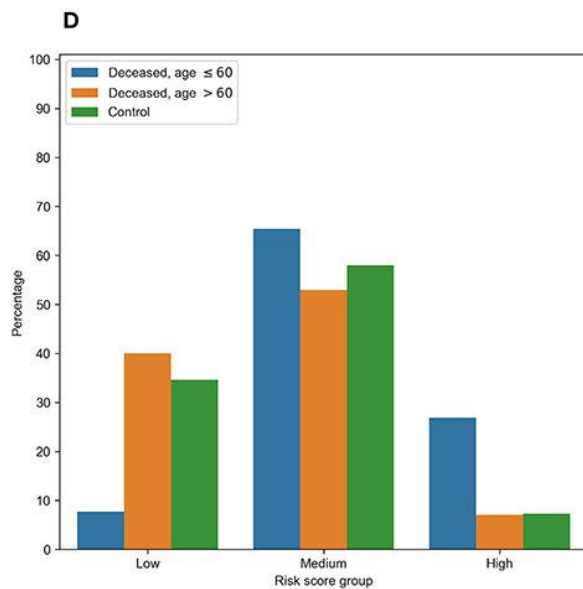
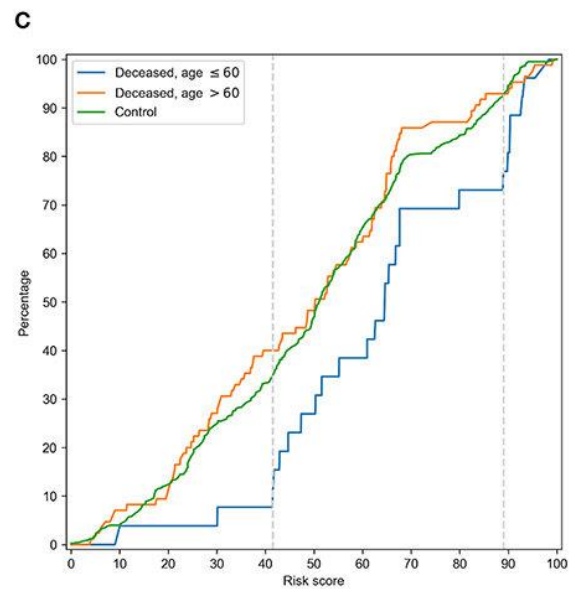
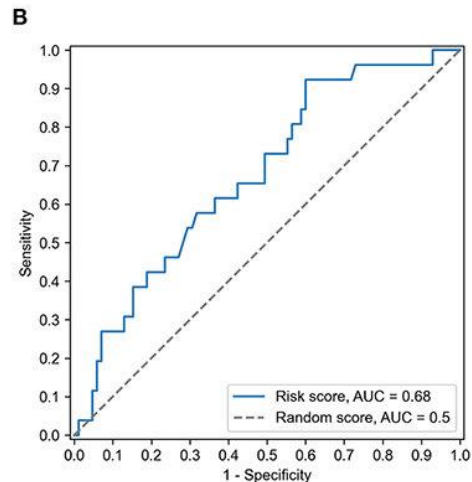
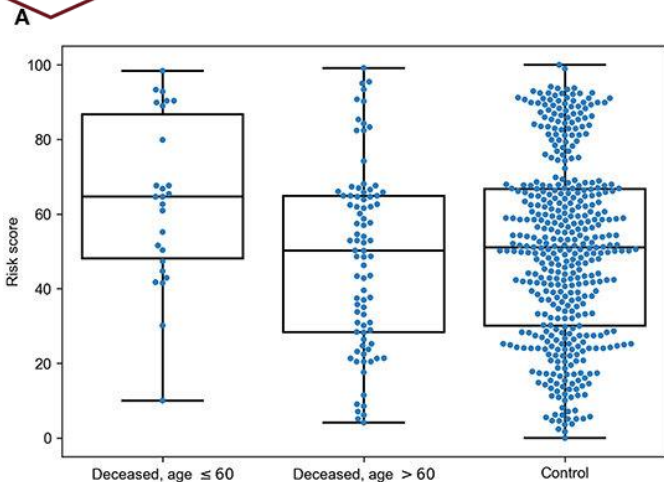


Биоконъюгация антител с различными лигандами находит разнообразное применение, например, для доставки лекарств и визуализации. Флуоресцентные иммуноконъюгаты представляют собой перспективный инструмент для диагностики рака благодаря своей высокой яркости, специфичности, стабильности и сродству к мишени. Флуоресцентные антитела широко используются в проточной цитометрии для быстрой и чувствительной идентификации клеток, экспрессирующих целевой поверхностный антиген. Современные подходы к флуоресцентному мечению антител чаще всего используют случайную модификацию, а также несколько довольно сложных сайт-специфических методов.

- Целью нашей работы была разработка процедуры флуоресцентного мечения иммуноглобулина G посредством периодатного окисления гликанов антитела с последующим оксимным лигированием с флуоресцентными оксиаминами. Мы представляем новую методику, основанную на оксимном лигировании *in situ* этоксиэтилиден-защищенных аминокислородов с окисленными гликанами антител. Этот подход позволяет легко модифицировать любой иммуноглобулин G, при этом антигенсвязывающие домены остаются интактными, что открывает возможности для конструирования флуоресцентных зондов. Этот метод был использован для мечения антитела к PRAME, белку раковой опухоли, сверхэкспрессируемому при ряде раковых заболеваний.
- Моноклональное антитело 6H8 к белку PRAME было модифицировано защищенными оксиаминовыми производными красителей типа флуоресцеина (FAM, Alexa488, BODIPY FL).
- Полученные иммунофлуоресцентные конъюгаты были применены для анализа образцов костного мозга пациентов с онкогематологическими заболеваниями и продемонстрировали высокую эффективность при количественной оценке методом проточной цитометрии.
- Данный подход может быть применен для разработки различных иммунофлуоресцентных зондов для выявления диагностических и прогностических маркеров, которые могут быть полезны в противораковой терапии.

1. Sapozhnikova KA et al. (2021) Sensitive Immunofluorescent Detection of the PRAME Antigen Using a Practical Antibody Conjugation Approach. *Int J Mol Sci* (IF=5.924, Q_{wos} 1, SJR=1.455, Q_{sjr} 1)
2. Sapozhnikova KA et al. (2021) Detection of the PRAME Protein on the Surface of Melanoma Cells Using a Fluorescently Labeled Monoclonal Antibody. *Russ. J. Bioorganic Chem.* (IF=0.796, Q_{wos} 4, SJR=0.228, Q_{sjr} 4)

СВЯЗЬ ГЕНОТИПОВ HLA КЛАССА I С ТЯЖЕСТЬЮ COVID-19 И ПРЕДСКАЗАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ПРЕЗЕНТАЦИИ ПЕПТИДОВ ПРИ МУТАЦИЯХ SARS-CoV-2



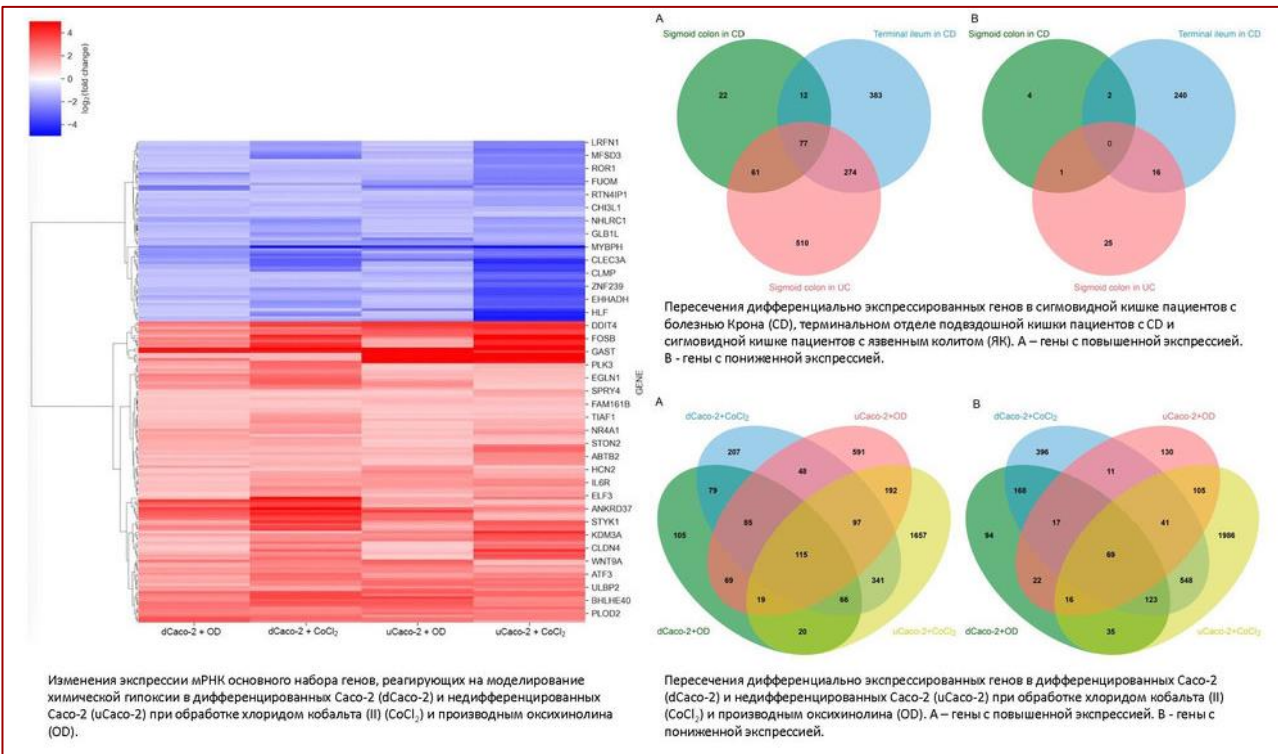
Быстро появляющиеся мутации SARS-CoV-2 могут влиять на эпитопы Т-клеток, что может помочь вирусу уклониться от ответа CD8 или CD4 Т-клеток. Мы разработали Т-клеточный атлас COVID-19 - комплексный веб-портал, который позволяет проанализировать, как мутации SARS-CoV-2 изменяют презентацию вирусных пептидов молекулами HLA. Данные представлены для распространенных вариантов вируса и наиболее частых аллелей HLA класса I и класса II. Сродство связывания молекул HLA и вирусных пептидов было оценено с помощью точных методов *in silico*. Полученные результаты подчеркивают важность учета разнообразия HLA-аллелей: опосредованные мутациями изменения в HLA-пептидных взаимодействиях сильно зависят от HLA-аллелей. Например, мы обнаружили, что пептиды, прочно связывающиеся с HLA-B*07:02 для референсного уханьского варианта вируса, перестали быть прочно связывающимися для индийского (Дельта) и британского (Альфа) вариантов.

1. Nersisyan S et al. (2021) T-CoV: a comprehensive portal of HLA-peptide interactions affected by SARS-CoV-2 mutations. *Nucleic Acids Res* (IF=16.971, Q_{wos} 1, SJR=9.008, Q_{sjr} 1)
2. Shkurnikov M et al. (2021) Association of HLA Class I Genotypes With Severity of Coronavirus Disease-19. *Front Immunol* (IF=7.561, Q_{wos} 1, SJR=2.646, Q_{sjr} 1)

HIF-ЗАВИСИМАЯ АКТИВАЦИЯ NFATC1 ПОВЫШАЕТ УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ITGA5 И PLAUR В КИШЕЧНОМ ЭПИТЕЛИИ ПРИ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ КИШЕЧНИКА

Эпителиальные клетки кишечника существуют в условиях физиологической гипоксии, что приводит к активации гипоксия-индуцибельного фактора (HIF) и поддерживает барьерную функцию и клеточный метаболизм кишечного эпителия. В противоположность этому, патологическая гипоксия является общей чертой некоторых хронических заболеваний, включая воспалительные заболевания кишечника (ВЗК).

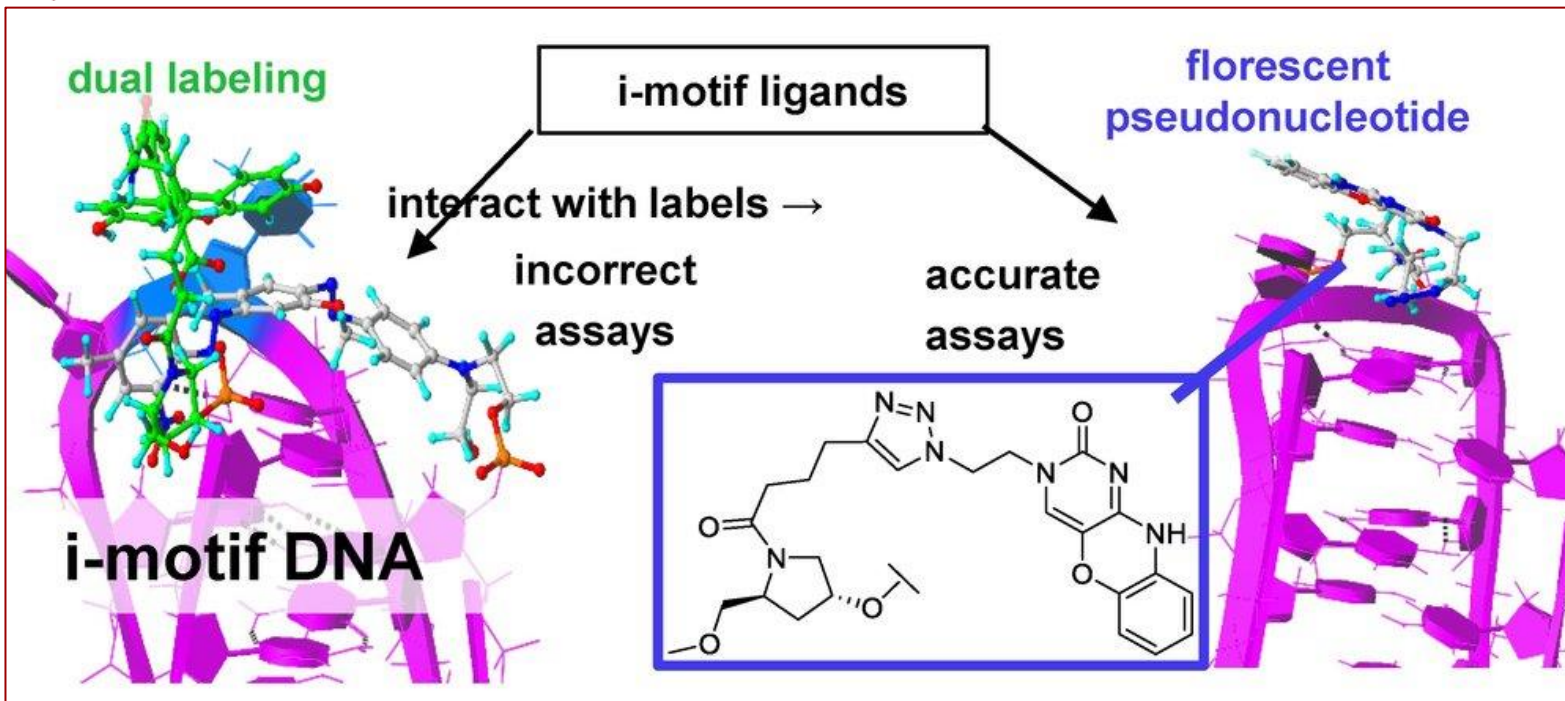
Мы изучили HIF-ассоциированные изменения в кишечном эпителии при ВЗК. На первом этапе в модели клеток кишечника *in vitro* с помощью секвенирования РНК был получен список генов, реагирующих на химическую активацию гипоксии. Обработка хлоридом кобальта (II) и производным оксихинолина как недифференцированных, так и дифференцированных клеток Caco-2 активировала HIF-сигнальный путь, согласно анализу обогащения групп генов. Основной набор генов, реагирующих на стимуляцию химической гипоксии в модели кишечника, включал 115 генов с повышенной экспрессией и 69 - с пониженной. Из этого набора белковый продукт был обнаружен при анализе протеома для 32 генов, а кратность изменения экспрессии по данным протеома и секвенирования РНК значительно коррелирует.



- Анализ общедоступного набора секвенирования РНК эпителиальных клеток кишечника пациентов с ВЗК подтвердил активацию сигнального пути HIF-1 в сигмовидной кишке пациентов с язвенным колитом и терминальной части подвздошной кишки пациентов с болезнью Крона.
- Из набора основных генов, полученных на модели гипоксии кишечника, в образцах ВЗК была обнаружена активация экспрессии генов ITGA5 и PLAUR, кодирующих интегрин α5 и рецептор активатора плазминогена урокиназного типа (uPAR). Взаимодействие этих молекул может активировать миграцию клеток и регенеративные процессы в эпителии.
- Анализ транскрипционных факторов с помощью ранее разработанного инструмента miRGTF показал возможную роль HIF1A и NFATC1 в регуляции экспрессии генов ITGA5 и PLAUR.
- Обнаруженные гены могут служить маркерами прогрессирования ВЗК и гипоксии кишечника.

Knyazev E et al. (2021) HIF-Dependent NFATC1 Activation Upregulates ITGA5 and PLAUR in Intestinal Epithelium in Inflammatory Bowel Disease. *Front Genet* (IF=4.599, Q_{wos}=2, SJR=1.413, Q_{sjr}=2)

ФЕНОКСАЗИНОВЫЕ ПСЕВДОНУКЛЕОТИДЫ В ДНК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯХ, ОБРАЗУЮЩИХ I-МОТИВЫ, ПОЗВОЛЯЮТ ТОЧНО ОЦЕНИТЬ СТАБИЛИЗИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ РЕГИСТРАЦИИ ИЗМЕНЕНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО СИГНАЛА

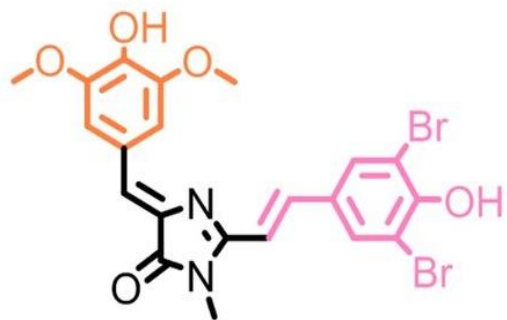
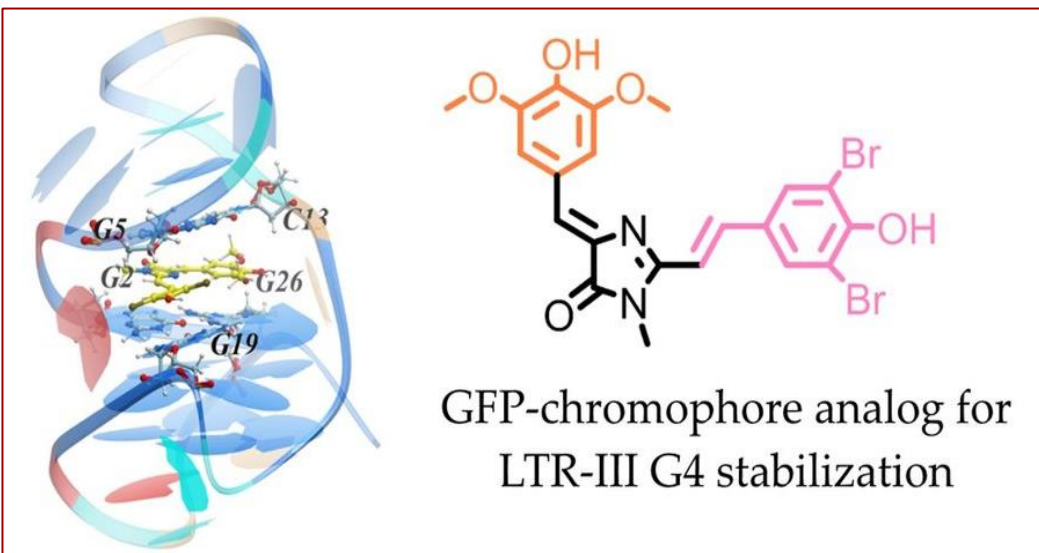


Отсутствие высокопроизводительных методов скрининга (HTS) малых молекул, которые стабилизируют ДНК i-мотивы (iM), ограничивает их разработку в качестве потенциальных кандидатов в лекарственные препараты.

- ❑ Мы показали, что регистрация изменения сигнала флуоресценции для исследования влияния лигандов на стабильность iM, применяя стандартную пару FAM – BHQ1, дает неверные результаты из-за дополнительных взаимодействий, связанных с красителем/тушителем.
- ❑ Мы разработали альтернативную систему с флуоресцентными феноксазиновыми псевдонуклеотидами в петлях, которые не влияют на «разворачивание» iM. В то же время флуоресценция феноксазиновых остатков чувствительна к «разворачиванию» iM, что позволяет точно оценить вызванные лигандом изменения стабильности iM.
- ❑ Полученные результаты могут послужить основой для новых HTS подходов к профилированию лигандов, взаимодействующих с iM.

Tsvetkov VB et al. (2021) Phenoxazine pseudonucleotides in DNA i-motifs allow precise profiling of small molecule binders by fluorescence monitoring.

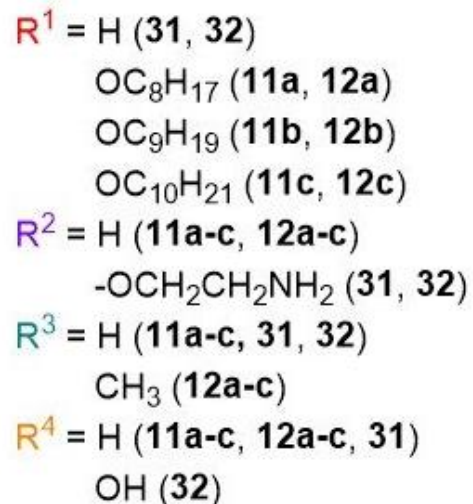
Analyst (Lond) (IF=4.616, Q_{wos}1, SJR=0.998, Q_{sjr}1)



Хромофор зеленого флуоресцентного белка (GFP) и его аналоги привлекают значительное внимание в основном как элемент систем биоимиджинга. В данной работе мы исследовали эти соединения в качестве противовирусных агентов. Мы выбрали ДНК LTR-III G4, основной G-квадруплекс (G4), присутствующий в промоторной области длинного концевой повтора (LTR) вируса иммунодефицита человека-1 (ВИЧ-1), в качестве мишени для первичного скрининга и разработки кандидатов в противовирусные препараты. Ранее было показано, что стабилизация данного G4 подавляет экспрессию и репликацию вирусных генов.

- ❑ Высокопроизводительный FRET скрининг 449 соединений, аналогов хромофора GFP, выявил ряд лидерных соединений, имеющих общие структурные особенности.
- ❑ Изучение взаимосвязи структура-активность (SAR) для наиболее эффективных стабилизаторов позволили нам установить структурные фрагменты, важные для связывания с данным G4.
- ❑ Синтетические соединения, разработанные на основе SAR анализа, показали высокий уровень стабилизации LTR-III G4. ЯМР-спектроскопия и молекулярное моделирование показали возможное образование комплекса LTR-III G4 с одним из наиболее селективных производных ZS260.1, расположенным внутри полости между двумя модулями, таким образом подчеркивая привлекательность LTR-III G4 мишени для направленного воздействия.
- ❑ Отобранные соединения показали умеренную активность против ВИЧ-1 (EC50 1,78–7,7 мкМ) *in vitro*, но активность сопровождалась заметной цитотоксичностью.

Ryazantsev DY et al. (2021) Probing gfp chromophore analogs as anti-hiv agents targeting ltr-iii g-quadruplex. *Biomolecules* (IF=4.879, Q_{wos}2, SJR=1.125, Q_{sjr}2)



Virus	VZV, TK ⁺	VZV, TK ⁻	TBEV	POWV	CHIKV	H1N1	SARS-CoV-2
11a	0.42	15.9	2.8	1.5	2.5	82	>100
11b	0.2	11.3	5.3	7.7	7.4	>40	>100
11c	0.68	15.2	40	4.4	ND	3.4	>100
12a	8.70	>100	22	13.3	23.8	104	>100
12b	>20	>20	2.53	2.4	6.3	35	>100
12c	10.70	15.1	5.4	0.45	0.71	23	>100
31	2.23*	1.46*	12*	ND	ND	ND	1.12
32	ND	3.57*	14.1*	ND	ND	ND	2.52

* - previously published data

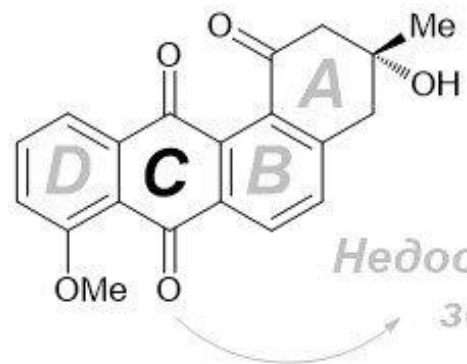
Новые и вновь появляющиеся вирусы периодически вызывают вспышки и эпидемии во всем мире, что в конечном итоге приводит к глобальным проблемам, таким как нынешняя пандемия новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 COVID-19. Таким образом, совершенно очевидна острая необходимость в новых противовирусных препаратах.

- Мы осуществили синтез и провели оценку противовирусной активности феноксазиновых нуклеозидных аналогов, разделенных на три группы: (1) 8-алкоксизамещенные, (2) ациклические и (3) карбоциклические.
- Противовирусная активность оценивалась на структурно и филогенетически разнообразной панели РНК и ДНК вирусов из 25 видов. Четыре соединения ингибировали 4 ДНК/РНК вируса с EC50 ниже 20 мМ.
- Токсичность соединений для клеточных линий, используемых для культивирования вирусов, в большинстве случаев была незначительной.
- Кроме того, ранее полученные и новые производные феноксазина были оценены на активность в отношении SARS-CoV-2, и некоторые из них показали многообещающее ингибирование репродукции со значениями EC50 в низком микромолярном диапазоне, хотя это и сопровождалось соразмерной цитотоксичностью.

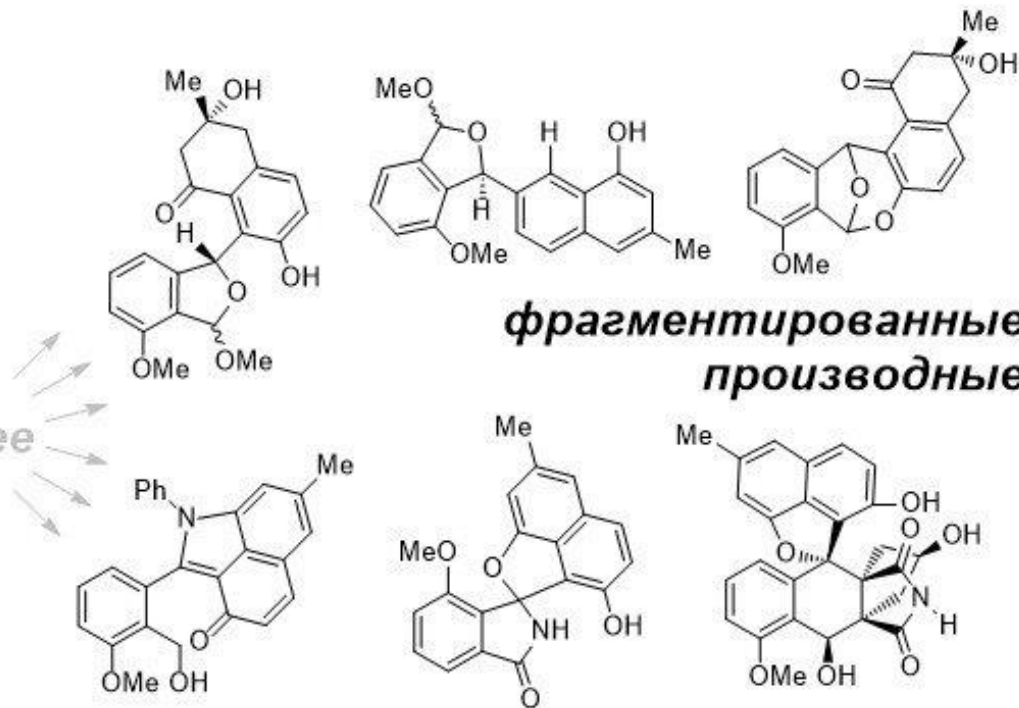
Kozlovskaya LI et al. (2021) Phenoxazine nucleoside derivatives with a multiple activity against RNA and DNA viruses.

Eur J Med Chem (IF=6.514, $Q_{\text{wos}}=1$, SJR=1.177, $Q_{\text{sjr}}=1$)

АНГУЦИКЛИНЫ

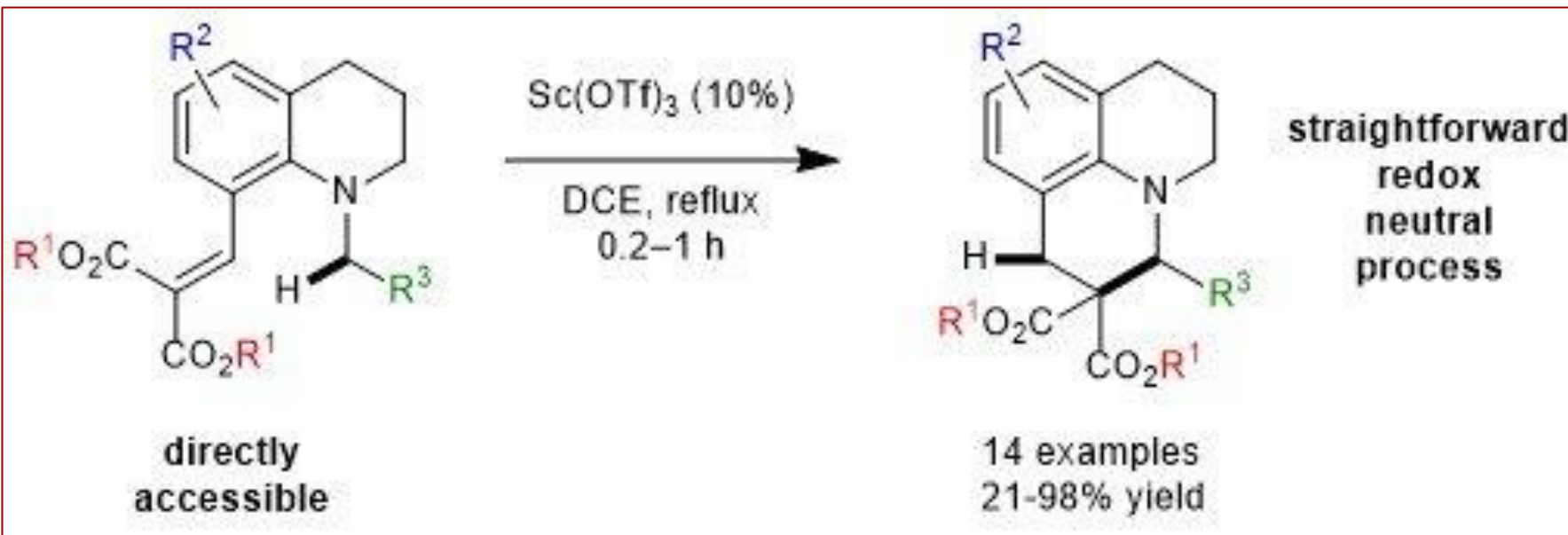


Недостающее
звено



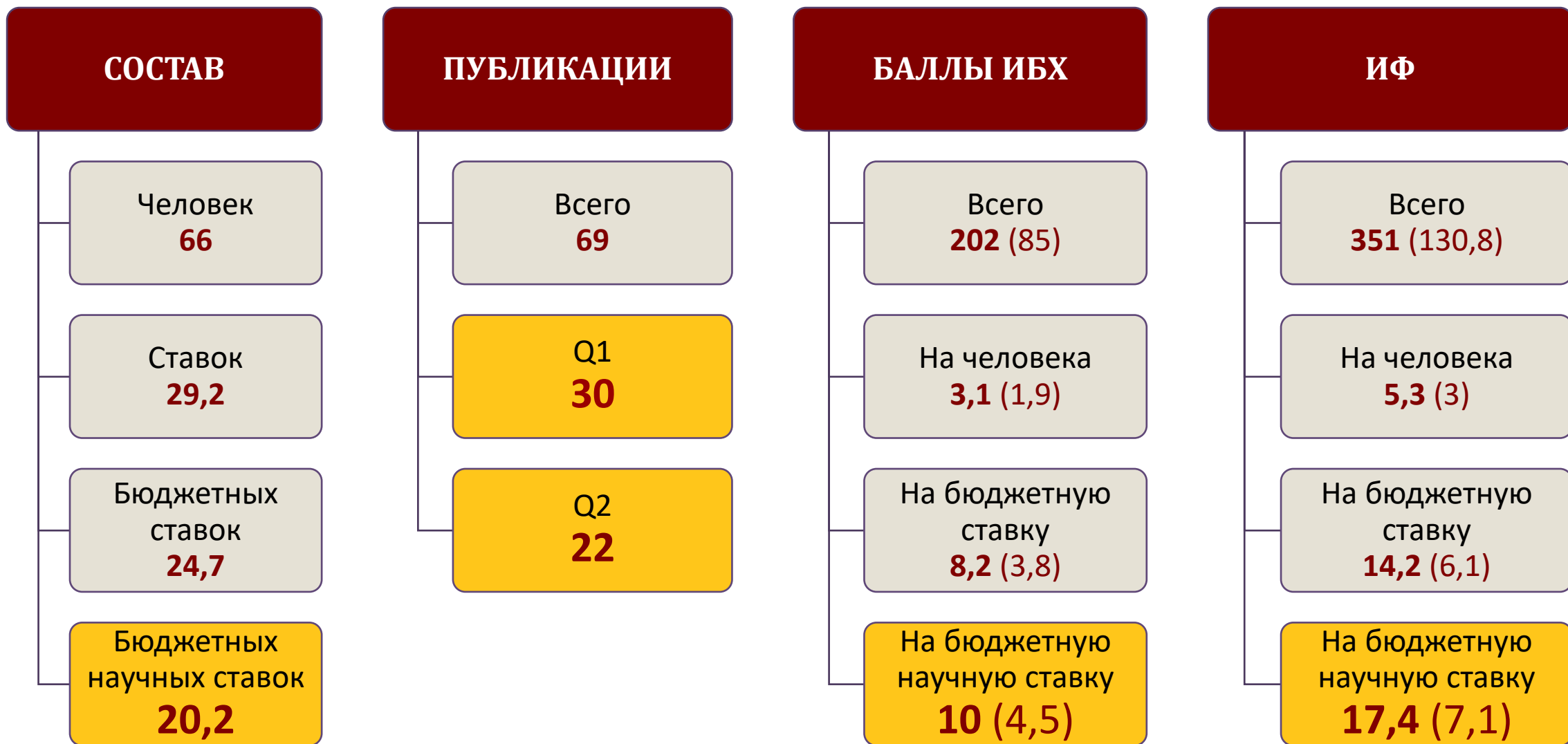
- ❑ Совместно с коллегами из Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта произведено исследование фрагментированных по кольцу С производных ангуциклинонов.
- ❑ Разработан подход к химическому синтезу Элменолов А и Б и ряда родственных соединений.
- ❑ На основании литературных данных и оригинальной гипотезы пересмотрен путь биосинтеза и потенциальная функция данных соединений.
- ❑ Результаты исследования позволяют взглянуть по-новому на большую группу метаболитов данного класса антибиотиков.

1. Ikonnikova VA et al. (2021) Total Synthesis of Elmenols A and B and Related Rearranged Angucyclinones. *ChemistrySelect* (IF=2.109, Q_{wos} 3, SJR=0.437, Q_{sjr} 2)
2. Mikhaylov AA et al. (2021) Disclosing biosynthetic connections and functions of atypical angucyclinones with a fragmented C-ring. *Nat Prod Rep* (IF=13.423, Q_{wos} 1, SJR=2.703, Q_{sjr} 1)



Shirokova VV et al. (2021) 1,5-Hydride-Shift-Triggered Cyclization for the Synthesis of Unsymmetric Julolidines. *Synthesis (Stuttg)* (IF=3.157, Q_{wos}2, SJR=0.885, Q_{sjr}1)

- Совместно с группой химии гетероциклических соединений на основе реакции 1,5-гидридного сдвига/циклизации разработан универсальный подход к синтезу труднодоступных несимметричных производных юлолидина - потенциальной платформы для создания новых биологически активных соединений.
- Ключом к успешной реализации подхода стала возможность прямого формилирования тетрагидрохинолинов в положение 8 с помощью реакций Вильсмейера-Хаака или C-H активации.





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

ИФ 78,3

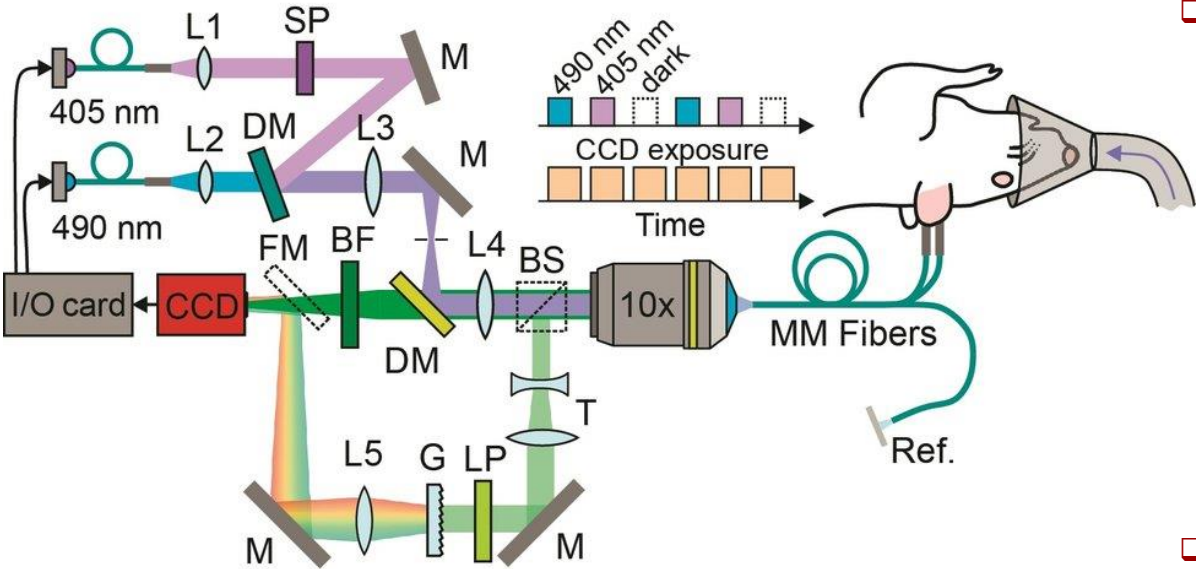
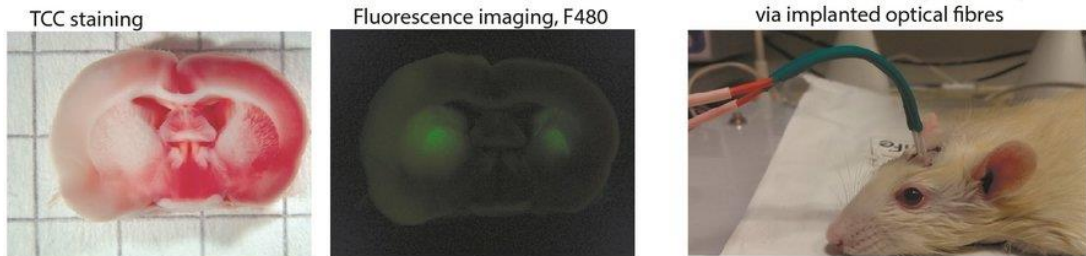
- **Лаборатория молекулярных технологий**
В.В. Белоусов

ИФ 15,8

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

ИФ 30,2

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



Kelmanson IV et al. (2021) In vivo dynamics of acidosis and oxidative stress in the acute phase of an ischemic stroke in a rodent model.

Redox Biol (IF=11.799, Q_{wos} =1, SJR=2.059, Q_{sjr} =1)

Ишемический инсульт является одной из главных причин смертности и инвалидизации населения в мире. Патопфизиология инсульта активно исследуется на самых разных уровнях и моделях, однако до сих пор существуют серьезные пробелы в понимании метаболических изменений, сопровождающих данное заболевание. Особенно плохо изучены процессы, которые происходят в ткани мозга на самых ранних стадиях ишемии и реперфузии. В сотрудничестве с коллегами из Федерального центра мозга и нейротехнологий ФМБА России, МГУ им. М.В. Ломоносова и других российских и зарубежных институтов мы разработали технологию, позволяющую регистрировать биохимические события в тканях мозга лабораторных животных *in vivo*.

- Путем вирусной доставки в мозг крыс линии SHR были экспрессированы разработанные ранее в нашем институте генетически кодируемые флуоресцентные биосенсоры *SypHer3s* для регистрации динамики pH (Ermakova et al. Chem. Commun. 2018 doi:10.1039/C7CC08740C) и *HyPer7* для регистрации пероксида водорода (H_2O_2) (Pak et al., Cell Metabolism 2020 doi:10.1016/j.cmet.2020.02.003). Флуоресцентный ратиометрический сигнал биосенсоров считывался с помощью специально разработанной системы двухканальной фотометрии через имплантированные в мозг оптические волокна. Ишемический инсульт вызывался путём перекрытия средней мозговой артерии животного (MCAO). Мы зарегистрировали мощный ацидоз в ишемизированной ткани мозга, возникающий с первых секунд развития патологии. Вопреки ожиданиям, значительного образования H_2O_2 , одного из главных представителей активных форм кислорода в клетках, в острой фазе ишемии/реперфузии обнаружено не было. Существенное увеличение концентрации H_2O_2 в митохондриях нейронов в поврежденной ткани наблюдалось лишь на следующие сутки.
- Сравнение результатов экспериментов *in vivo* с исследованиями на культивируемых нейронах в условиях гипоксии/реоксигенации продемонстрировало, что динамика окислительно-восстановительных процессов в этих моделях значительно различается. Это в очередной раз подтверждает, что культура клеток является плохой прогностической моделью метаболических событий, происходящих внутри организма.





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

ИФ 13,1

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

ИФ 16,2

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

ИФ 5,1

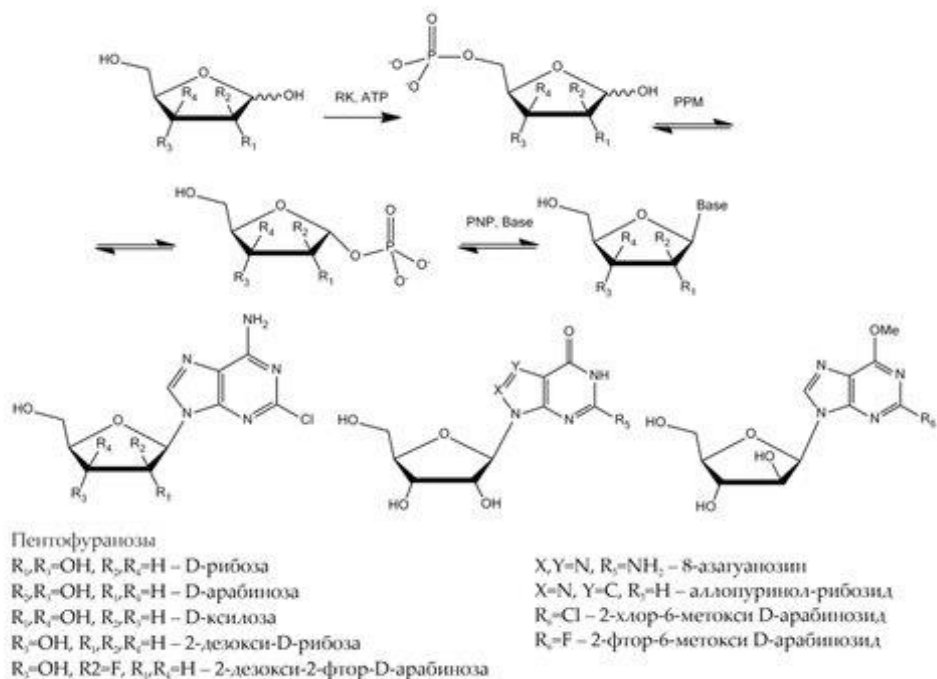
- **Лаборатория биотехнологии гликопротеинов**
И.И. Воробьев

ИФ 27,2

- **Группа химии пептидов**
В.Н. Азев

ИФ 13,7

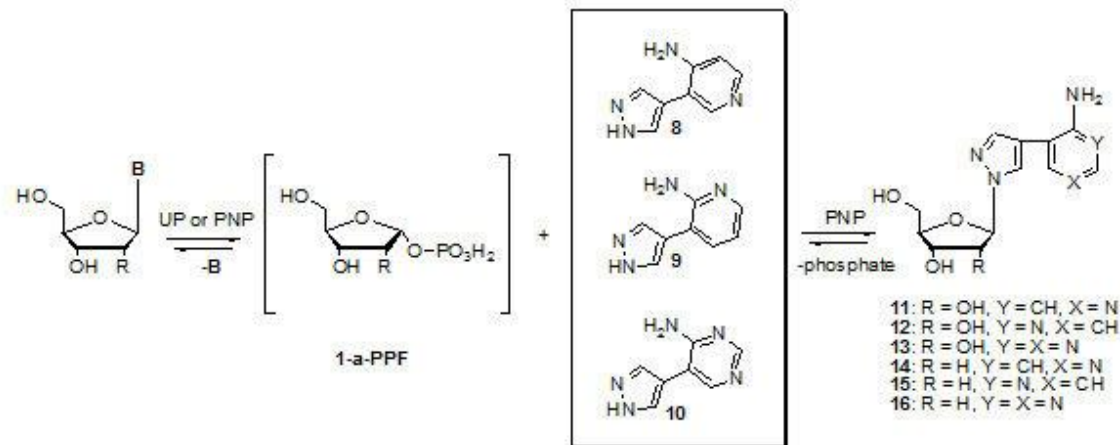
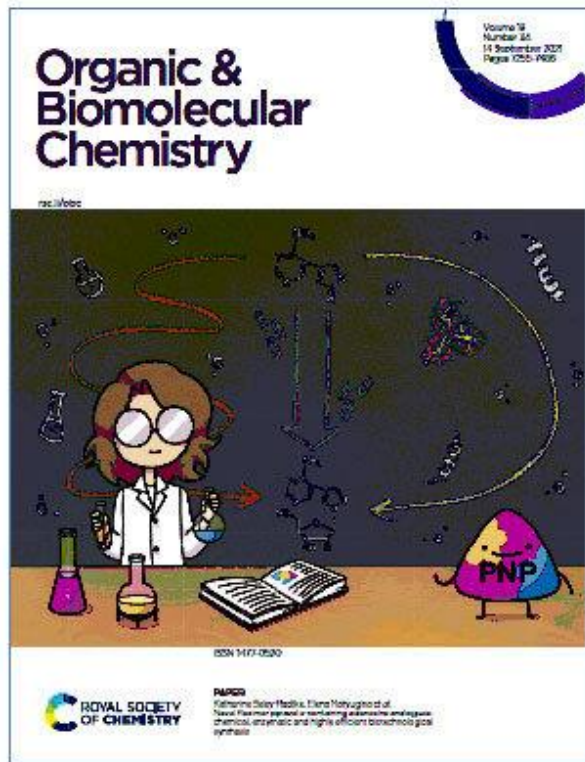
- **Группа молекулярной биотехнологии**
Г.В. Микулинская



	Ферменты	Субстрат	Активность, ед/мг	Синтез нуклеозидов
Термофильный каскад	<i>Tsp</i> PK	D-рибоза	19 ± 3	8-азагуанозин (69%)
	<i>Tth</i> PPM	D-рибозо 5-фосфат	14 ± 3	
		2-дезоксид-D-рибозо 5-фосфат	2.8 ± 0.7	
	<i>Tth</i> PNPI	Инозин	180 ± 30	
<i>Tth</i> PNPII	Аденозин	200 ± 30		
Мезофильный каскад	<i>Ec</i> RK	D-рибоза	310 ± 40	Аллопуринол-рибозид (84%) 9-(β-D-арабинофуранозил)-2-хлор-6-метоксипурин (54%) 9-(β-D-арабинофуранозил)-2-фтор-6-метоксипурин (42%)
	<i>Ec</i> PPM	D-рибозо 5-фосфат	4.9 ± 0.9	
		Инозин	220 ± 30	
	<i>Ec</i> PNP	Аденозин	120 ± 10	

Fateev IV et al. (2021)
 Multi-enzymatic cascades in the synthesis of modified nucleosides: Comparison of the thermophilic and mesophilic pathways. **Biomolecules** (IF=4.879, Q_{wos} 2, SJR=1.125, Q_{sjr} 2)

Проведено сравнительное изучение возможностей использования каскадов ферментов рибозиназа → фосфопентомутаза → нуклеозидфосфорилаза в синтезе модифицированных нуклеозидов. Показано, что каскадные синтезы модифицированных нуклеозидов можно осуществлять как мезофильным, так и термофильным путем из D-пентоз: рибозы, 2-деоксирибозы, арабинозы, ксилозы, 2-деокси-2-фтор-арабинозы. С использованием ферментативного каскада количественно наработаны из D-рибозы и D-арабинозы четыре нуклеозида. Синтезированы рибозиды 8-азагуанозина (термофильный каскад) и аллопуринола (мезофильный каскад). Впервые синтезированы D-арабинозиды 2-хлор-6-метоксипурина и 2-фтор-6-метоксипурина с использованием мезофильного каскада. Несмотря на сравнительно небольшую разницу в температурах при постановке каскадных реакций (50 и 80 °C), скорость образования продуктов в реакциях с ферментами *E. coli* значительно выше. В мезофильном каскаде достигается более высокий выход продукта, поэтому его целесообразнее использовать для полиферментативного синтеза модифицированных нуклеозидов.



B – heterocyclic base; 1- α -PPF – 1- α -phosphate D-pentofuranose; UP – uridine phosphorylases;
 PNP – purine nucleoside phosphorylase

The enzymatic synthesis of adenosine fleximer analogues

Engelhardt Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences (Russia),
 Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences (Russia),
 Metkinen Chemistry Oy, School of Pharmacy, Biocenter Kuopio, University of Eastern Finland (Finland),
 Department of Chemistry & Biochemistry, University of Maryland (USA)

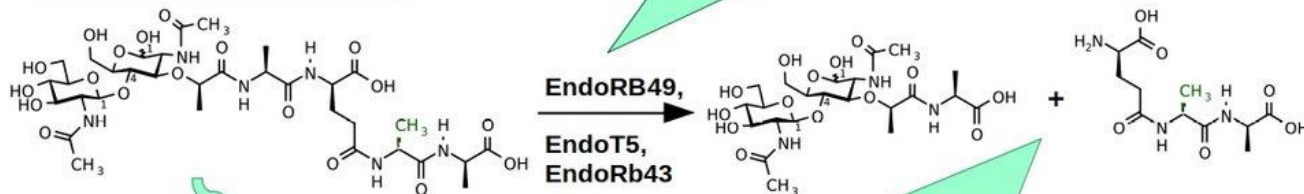
Khandazhinskaya A et al. (2021) Novel fleximer pyrazole-containing adenosine analogues: chemical, enzymatic and highly efficient biotechnological synthesis. *Org Biomol Chem* (IF=3.876, Q_{wos} 1, SJR=0.923, Q_{sjr} 1)

Сотрудниками лаборатории совместно с коллегами из Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта была впервые синтезирована серия флексимерных пиразол-содержащих 8-аза-7-дезаза-аналогов аденозина – соединений, у которых пуриновое кольцо разделено на две ароматические системы. Было проведено сравнение эффективности химического, ферментативного и биотехнологического подходов синтеза. Показано, что ферментативный подход обладает регио- и стерео селективностью, экологичен и эффективен. Иллюстрация нашей работы была напечатана на обложке номера *Organic & Biomolecular Chemistry*, в котором вышла статья.

ХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ МИМЕТИКА ФРАГМЕНТА КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ БАКТЕРИИ И ЕГО ГИДРОЛИЗ ЭНДОЛИЗИНАМИ БАКТЕРИОФАГОВ

Селективный химический синтез миметика фрагмента пептидогликана

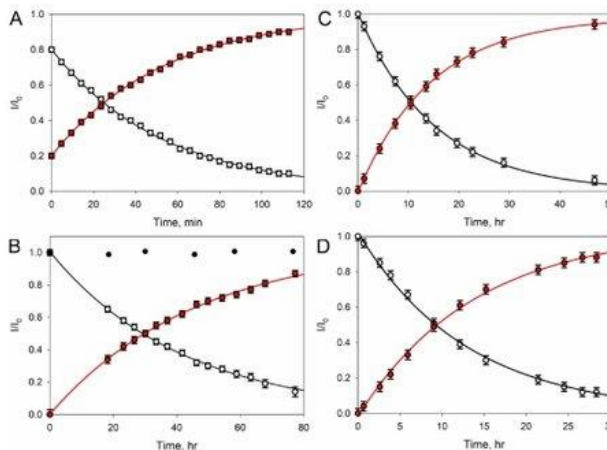
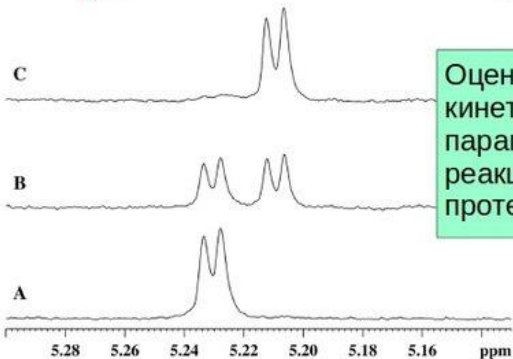
Миметик является субстратом для пептидаз колибактериофагов



Специфичность гидролиза по связи Ala-D-Glu (ЯМР исследования)

Отнесение сигналов в ^1H ЯМР спектрах миметика и продуктов его гидролиза

Оценка кинетических параметров реакций протеолиза



С целью изучения механизма протеолитического гидролиза пептидогликана эндолизинами некоторых бактериофагов был осуществлено конструирование и химический синтез искусственного субстрата указанных ферментов, поскольку применение природного пептидогликана имеет значительные трудности в проведении экспериментальной работы.

Синтезированное вещество является миметиком фрагмента пептидогликана и представляет собой N-ацетилглюкозаминил- β -(1-4)-N-ацетилмураоил-L-аланил- γ -D-глутамил-L-аланил-D-аланин. Гидролиз миметика литическими L-аланил- γ -D-глутаматными пептидазами бактериофагов T5, RB43 и RB49 изучали методом ЯМР. Было показано, что ферменты распознают синтезированный миметик в качестве субстрата, а его гидролиз протекает по связям L-аланил- γ -D-глутамат, как это имеет место быть в природном пептидогликане. Проведена оценка кинетических параметров реакций гидролиза рядом эндолизинов.

Azev V et al. (2021) Chemical synthesis of peptidoglycan mimetic-disaccharide-tetrapeptide conjugate and its hydrolysis by bacteriophage T5, RB43 and RB49 L-alanyl-D-glutamate peptidases. *Peer J* (IF=2.984, Q_{wos} 2, SJR=0.927, Q_{sjr} 1)

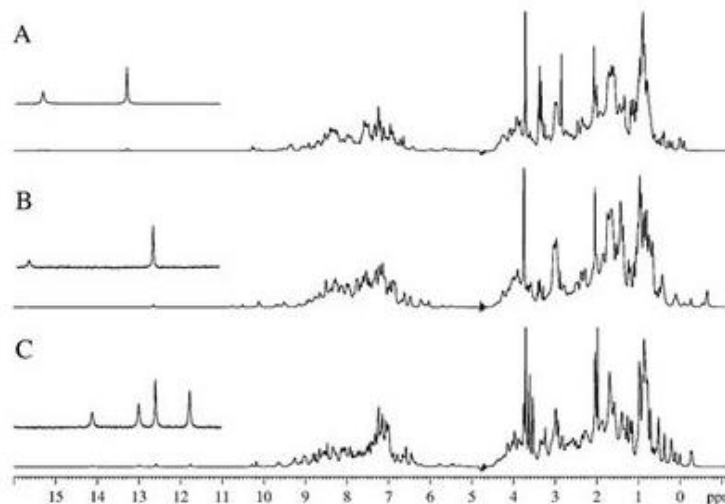
```

EndoT5      MSFKFGKNSKQLATVKEPELQKVARRALELSPYDFTIIVQGIRTVAQSAQNIANGTSFLKD
EndoRB49   -MPKLSQRSKDRLVGVHFDLVKVVHRALELTPVDGITEGVRSLQTKKIVAEQKS---K
EndoRB43   -MPKLAKKSINNLRGKVPKLVKVVQRALELSPEDPGVREGLRTVEQQREYVRTGAS---Q
          **:.:.* ..* *:*:* **..*****:* ** ::*:*: . : : * *
Consensus  FK S L V P L KV RALEL P DF GR GS

EndoT5      PSKSKHITGDAIDFAPYINGKIDWNDEAFWA-VKKAPEQAGKELGKLRFGDWNASGD
EndoRB49   TMKSRHLGFAVDVVAYPKDKDTWNM--KYYRMIADAFKQAGRELGVFVEWGGDTS---
EndoRB43   TMNSKHITGDAVDLYP-SKLEPEGWQKPKVWLVFLNAMKKAGDELGVKLRFGDWNKDPN
          . : * . * : * . . : * : : : * : : * * * : : * : * .
Consensus  S H G A D W A AG ELG G W

EndoT5      YEDEIKRGTIYGGHVELV-----
EndoRB49   -----FDGPHLQLFHSKYPDFK
EndoRB43   LPIETK--FDAPHIELA-----
          * . * : *
Consensus  D H L
  
```

Множественное выравнивание последовательностей ферментов EndoRB49, EndoRB43 и EndoT5 и их консенсусная последовательность. Голубым цветом обозначены остатки гистидина и аспартата, координирующие ион Zn^{2+} , зеленым – другие остатки гистидина. Красным цветом отмечен каталитический аспартат. Остатки, координирующие ион Ca^{2+} в EndoT5, и аналогичные им остатки в EndoRB43 отмечены синим.



1H -NMR спектры ферментов при pH 4.2 и T = 298K: А. EndoRB43, В. EndoT5, и С. EndoRB49. Низкопольные области спектров, характеризующие связывание иона Zn^{2+} (А, С) и ионов Zn^{2+} и Ca^{2+} (В), показаны при большом увеличении.

Kutyshenko VP et al. (2021) Comparative analysis of the active sites of orthologous endolysins of the Escherichia lytic bacteriophages T5, RB43, and RB49. *Int J Biol Macromol* (IF=6.953, Q_{wos} 1, SJR=1.14, Q_{sjr} 1)

Целый спектр физических методов (ядерный магнитный резонанс, круговой дихроизм, дифференциальная сканирующая калориметрия) использованы для сравнительного анализа активных центров трех цинк-зависимых металлопептидаз – эндолизинов псевдо Т-четных миовирусов (RB43 и RB49) и сифовируса (T5). Показана аминокислотная и структурная консервативность сайта связывания цинка и ключевая роль этого иона в стабилизации пространственной укладки белка. Мы продемонстрировали, что связывание Zn^{2+} в активном центре пептидазы EndoRB49 вызывает конформационные перестройки, аналогичные тем, что происходят в молекуле EndoT5 при связывании двух ионов – каталитического Zn^{2+} и регуляторного Ca^{2+} – и приводят к формированию каталитически активной формы фермента.





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

ИФ 60,2

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

ИФ 14

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

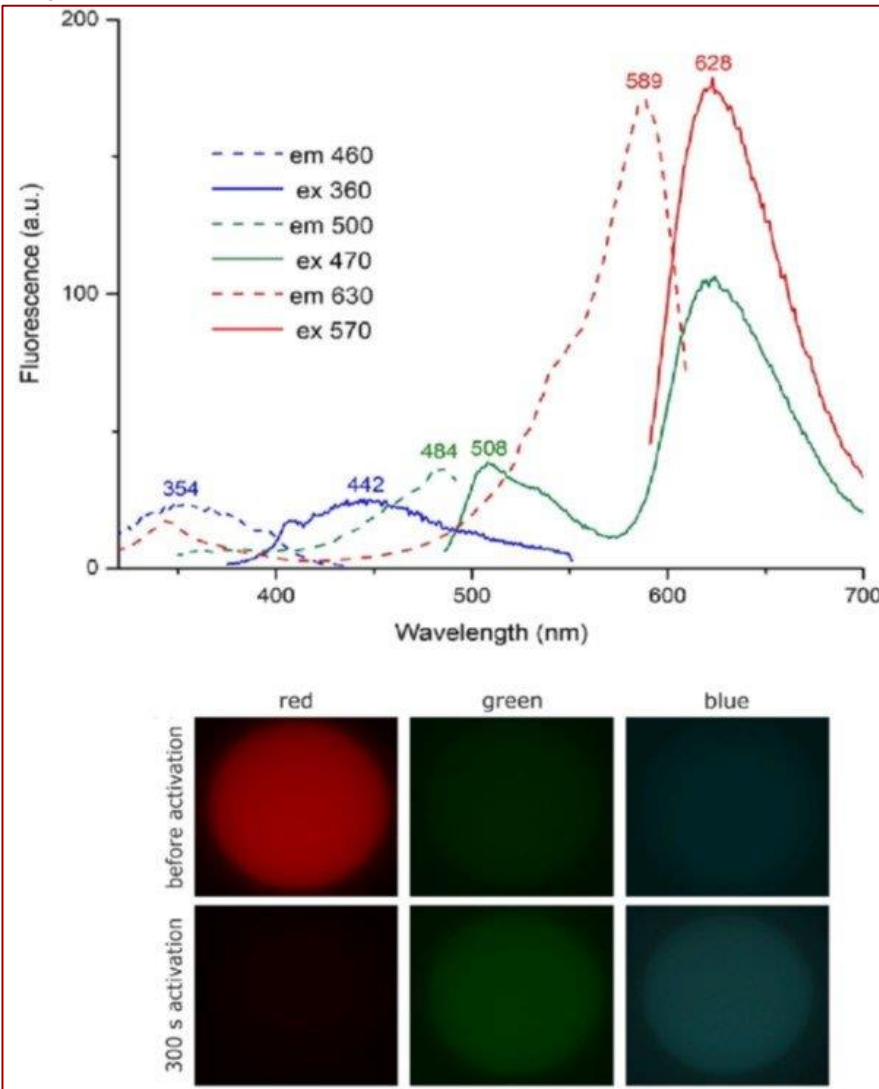
ИФ 47,5

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

ИФ 80,4

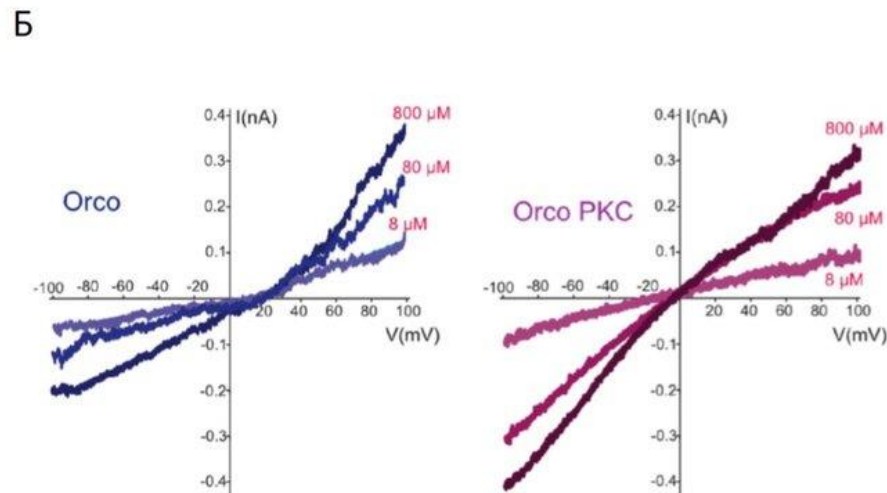
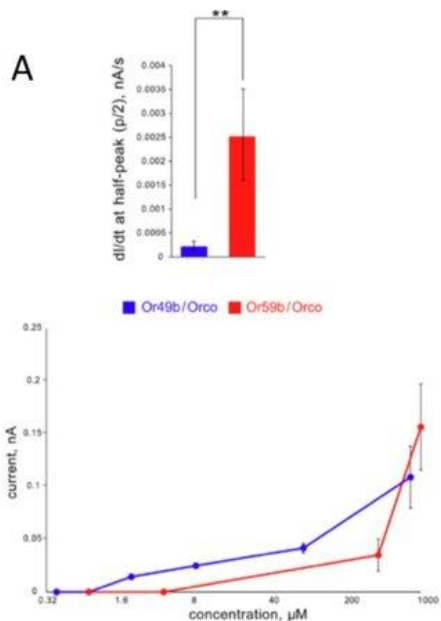
- **Группа химии гетероциклических соединений**
М.С. Баранов

ФОТОВОССТАНОВЛЕНИЕ ДАЛЬНЕКРАСНОГО ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО БЕЛКА mKate2



Дальнекрасный флуоресцентный белок mKate2 способен к формированию зеленой формы под действием интенсивного облучения. Мы исследовали его фотоповедение и обнаружили также переход белка в синее флуоресцентное состояние. Более того, выявлено влияние на кинетику фотоконверсии концентрации белка, удельной мощности облучения и наличия редокс-активных молекул в среде. Стационарная и времяразрешенная флуоресцентная спектроскопия позволила определить, что наблюдаемая эволюция спектральных форм не является истинной фотоконверсией, а происходит в основном вследствие «демаскировки» незрелых форм хромофора типа GFP при обратимом фотовосстановлении красного хромофора типа DsRed.

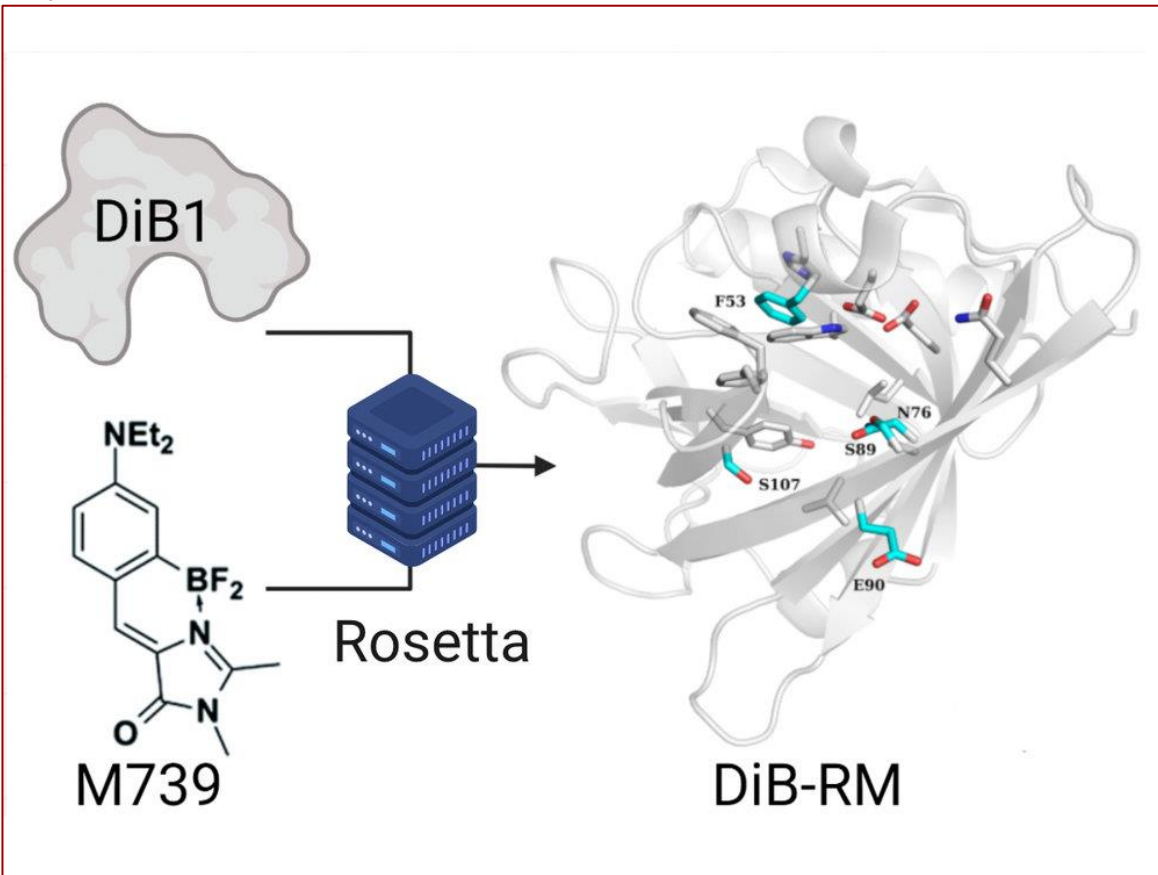
Protasova EA et al. (2021) Chromophore reduction plus reversible photobleaching: how the mKate2 photoconversion works. *Photochem Photobiol Sci* (IF=3.982, Q_{wos} 2, SJR=0.699, Q_{sjr} 2)



Обонятельные рецепторы насекомых семейства OR представляют собой гетеромерные молекулы, состоящие из лиганд-специфической (OrX) и регуляторной (Orco) субъединиц. Предполагается, что гетеромеры OR способны и к ионотропной, и к metabotropic активации.

- ❑ Мы исследовали функционирование двух гетеромерных обонятельных рецепторов дрозофилы в клетках млекопитающих.
- ❑ Рецепторы нативного состава (OrX/Orco) показывают различия по чувствительности к лиганду в ~100 раз, по кинетике электрического ответа в 25-30 раз (на рисунке (А) сверху показаны кинетические характеристики гетеромеров Or49/Orco и Or59/Orco, снизу – их чувствительность к лигандам).
- ❑ Замена регуляторной субъединицы на модифицированную, не связывающую цАМФ (т.н. Orco-PKC), не повлияла на работу рецептора метилацетата (Or59), но резко изменила проводимость рецептора о-крезола (Or49; на рисунке Б приведены вольтамперные характеристики рецептора с нативной и модифицированной субъединицами).
- ❑ Мы заключили, что рецепторы одного семейства могут существенно отличаться по своей настройке, в т.ч., механизмами трансдукции сигнала.

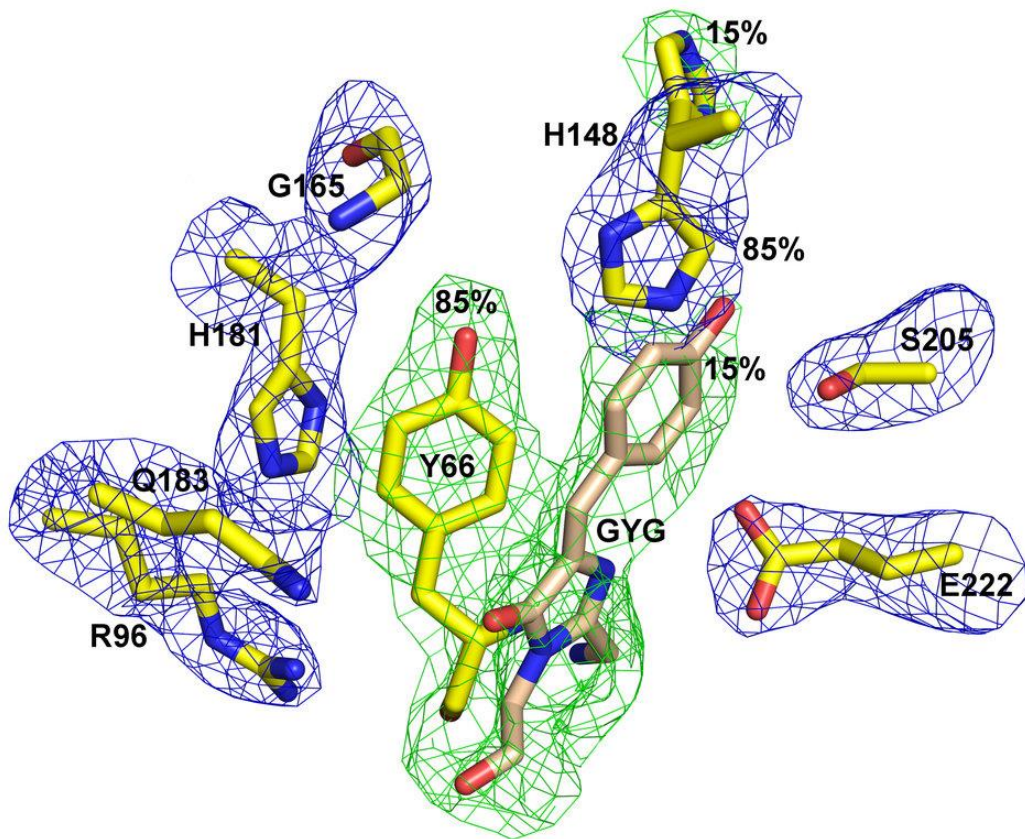
Kolesov DV et al. (2021) Impacts of OrX and cAMP-insensitive Orco to the insect olfactory heteromer activity. *Mol Biol Rep* (IF=2.316, Q_{wos} 4, SJR=0.532, Q_{sjr} 3)



Флуороген-активирующие белки – это новейшие системы обратимого флуоресцентного мечения, состоящие из генетически кодируемого белка и флуорогена, добавляемого извне. Доступный исследователям набор таких меток крайне ограничен, а разработка новых вариантов происходит медленно. Мы применили компьютерное моделирование лиганд-рецепторных взаимодействий и компьютерный редизайн лиганд-связывающего кармана для создания улучшенного флуороген-активирующего белка.

- ❑ Разработанный белок DiB-RM демонстрирует большую молекулярную яркость в сверхразрешающей локализационной микроскопии protein-PAINT по сравнению с белком-предшественником DiB1.
- ❑ На основе белка DiB-RM также создана эффективная сплит-система, а во флуоресцентной микроскопии DiB-RM показал увеличенную фотостабильность мечения.
- ❑ Сопоставление экспериментальных данных, кристаллических структур и результатов компьютерного моделирования улучшили понимание взаимосвязи структура-функция во флуороген-активирующих белках на основе бактериального липокалина.

1. Bozhanova NG et al. (2021) Computational redesign of a fluorogen activating protein with Rosetta. *PLoS Comput Biol* (IF=4.475, Q_{wos} 1, SJR=2.628, Q_{sjr} 1)
2. Perfilov MM et al. (2021) Transient fluorescence labeling: Low affinity—high benefits. *Int J Mol Sci* (IF=5.924, Q_{wos} 1, SJR=1.455, Q_{sjr} 1)

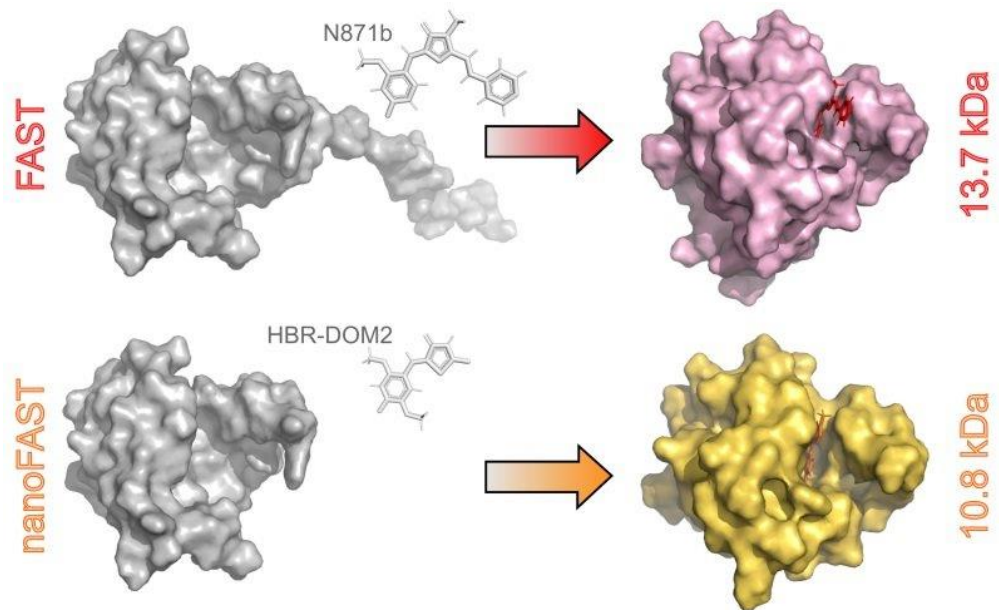


- Рентгеноструктурным методом установлена пространственная структура и изучены биохимические свойства EYFP-F165G - варианта яркого желтого биомаркера EYFP.
- Структура EYFP-F165G выявила два независимых пути посттрансляционной модификации, отвечающих двум состояниям полипептидной цепи - с интактной хромофор-образующей триадой (~85%) и зрелым хромофором (~15%).
- На основе пространственной структуры EYFP-F165G осуществлен дизайн новых генно-инженерных вариантов.
- Наиболее совершенный вариант EYFP-F165H с 2.2 -кратным увеличением яркости эмиссии по отношению к желтому предшественнику EYFP входит в десятку известных самых ярких биомаркеров.

Pletneva NV et al. (2021) Amino acid residue at the 165th position tunes EYFP chromophore maturation. A structure-based design.

Comput Struct Biotechnol J (IF=7.271, Q_{wos} 1, SJR=1.908, Q_{sjr} 1)

Карта электронной плотности $2Fo-Fc$ (синий цвет) в ближайшем окружении хромофора. Карта разностной электронной плотности $Fo-Fc$ (зеленый цвет) для созревшего хромофора (коричневый цвет) и интактной хромофоробразующей) триады GYG (желтый цвет).



1. Chen C et al. (2021) Developing Bright Green Fluorescent Protein (GFP)-like Fluorogens for Live-Cell Imaging with Nonpolar Protein–Chromophore Interactions. *Chemistry* (IF=5.236, Q_{wos} 2, SJR=1.687, Q_{sjr} 1)
2. Mineev KS et al. (2021) NanoFAST: structure-based design of a small fluorogen-activating protein with only 98 amino acids. *Chem Sci* (IF=9.825, Q_{wos} 1, SJR=3.687, Q_{sjr} 1)
3. Sokolov AI et al. (2021) Styrene Derivatives of Indole and Pyranone as Fluorogenic Substrates for FAST Protein. *Russ. J. Bioorganic Chem.* (IF=0.796, Q_{wos} 4, SJR=0.228, Q_{sjr} 4)

Флуоресцентные белки - важнейший инструмент в современных биологических исследованиях. Однако такие белки обладают рядом выраженных недостатков: им требуется кислород и некоторое время для созревания, их цветовое разнообразие ограничено хромофорами сформированными из природных аминокислот, после фотообесцвечивания они не могут более выступать в роли метки, а также все они имеют достаточно большой размер, что сказывается на поведении изучаемого объекта. Отличной альтернативой таким белкам стали в последние годы так называемые флуороген-активирующие белки. Флуороген-активирующие белки не имеют собственного флуорофора, а принимают его из раствора. Этот механизм заметно повышает фотостабильность такой метки, а также позволяет индуцировать сигнал строго при необходимости. Подобный комплекс не требует времени и кислорода для созревания, цветовое разнообразие флуорогенов потенциально ничем не ограничено, а размер таких белков как правило заметно меньше.

- В ходе работ 2021 года в нашей группе совместно с Группой молекулярных меток для оптической наноскопии была создана целая серия новых флуорогенов для известного флуороген-активирующего белка FAST.
- Также совместно с этой же группой, Лабораторией биомолекулярной ЯМР-спектроскопии и коллегами из МФТИ мы разработали флуороген-активирующий белок nanoFAST размером всего 98 аминокислот, и это наименьший размер среди всех генетически кодируемых флуоресцентных меток.





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

ИФ 71,6

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

ИФ 0,8

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

ИФ 5,9

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



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





ДРУГИЕ ПОДРАЗДЕЛЕНИЯ

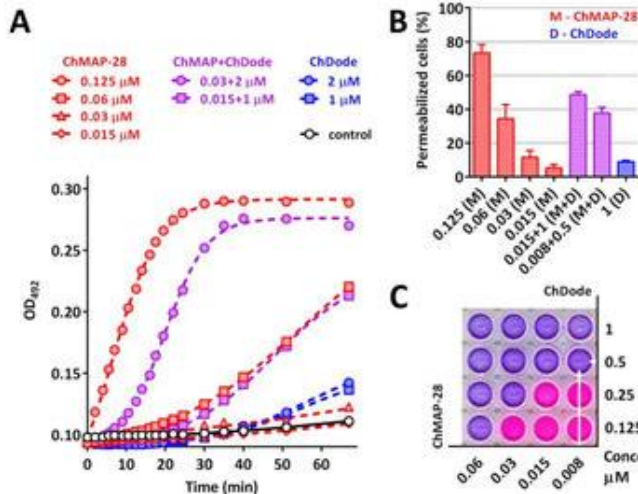
ИФ 39,6

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

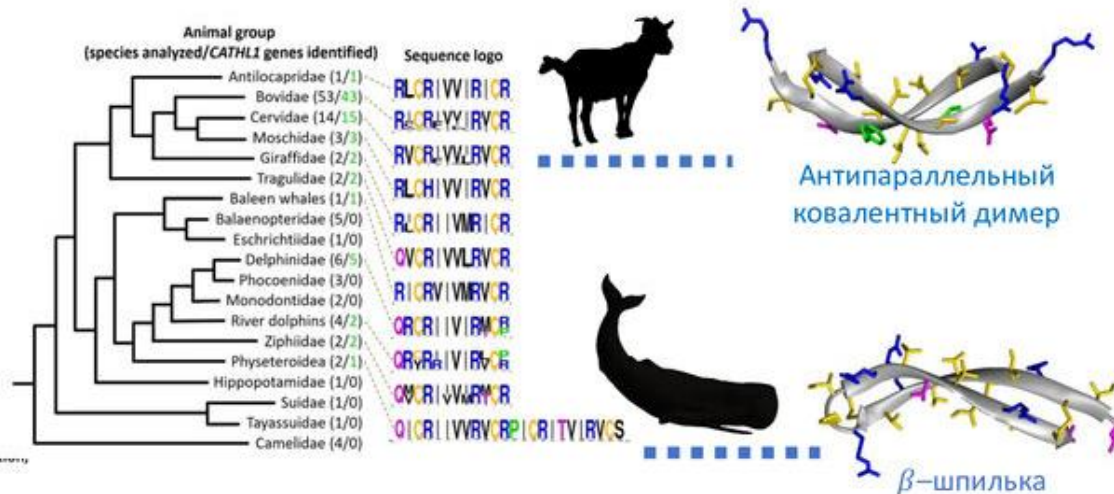
ИФ 45,9

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

Изучение совместного действия кателицидинов козы *Capra hircus*

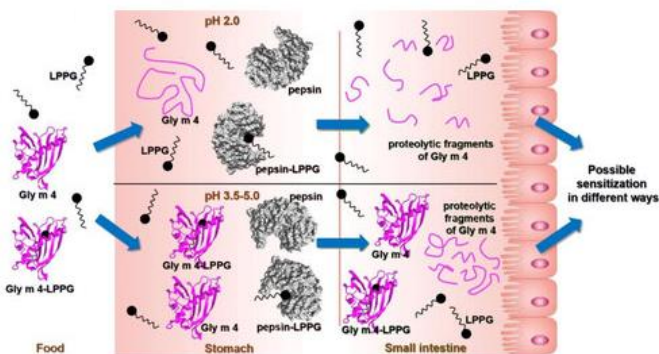


Изучение структуры додекапептида козы *Capra hircus* и нового β -шпилечного кателицидина кашалота *Physeter catodon*

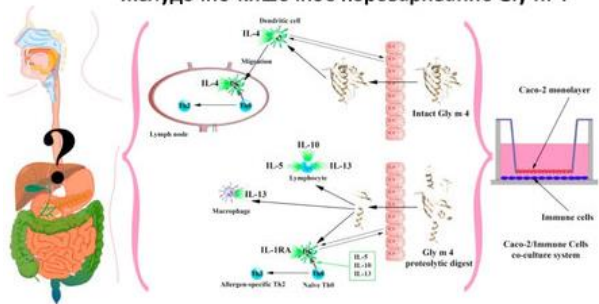


Bolosov IA et al. (2021)
Dodecapeptide Cathelicidins of Cetartiodactyla: Structure, Mechanism of Antimicrobial Action, and Synergistic Interaction With Other Cathelicidins. *Front Microbiol* (IF=5.64, Q_{wos} 1, SJR=1.701, Q_{sjr} 1)

Показано, что додекапептидные кателицидины являются широко распространенными антимикробными пептидами у представителей клады *Cetruminantia*, объединяющей современных жвачных и китообразных. Исследован додекапептид домашней козы *Capra hircus*, обозначенный как ChDode, и его уникальный ортолог из кашалота *Physeter catodon* (PcDode). Структуру пептидов изучали методами ЯМР-, КД- и ИК-Фурье спектроскопии. Установлено, что PcDode принимает структуру β -шпильки в водном растворе и по своим свойствам напоминает антимикробные β -шпилечные пептиды, в то время как ChDode образует β -структурный антипараллельный ковалентный димер, стабилизированный двумя межмолекулярными дисульфидными связями. Несмотря на умеренную антибактериальную активность ChDode, наблюдался значительный синергетический эффект этого пептида в комбинации с другим кателицидином козы - α -спиральным пептидом ChMAP-28. Этот эффект основан на увеличении проницаемости бактериальных мембран. Такой механизм может приводить к более эффективному комбинированному действию синергической пары пептидов козы - ChMAP-28 и Pro-богатого пептида mini-ChVac7.5N α , нацеленного на бактериальную рибосому.

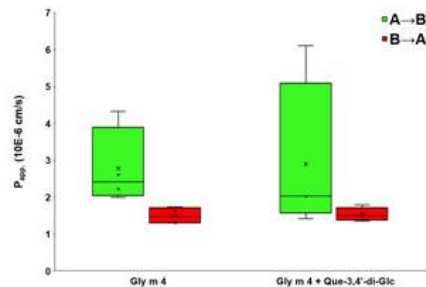


pH среды и связывание с липидами влияет на желудочно-кишечное переваривание Gly m 4



Предложены возможные механизмы сенсibilизации иммунной системы человека аллергеном сои Gly m 4

Известно, что главный (мажорный) аллерген сои Gly m 4 способен вызывать тяжелые аллергические реакции, включая анафилаксию, в отличие от многих других гомологов аллергена пыльцы березы Bet v 1, которые в большинстве случаев являются причиной местных аллергических реакций. Цель данного исследования состояла в проверке гипотезы о том, что аллерген сои Gly m 4 может являться сенсibilизатором иммунной системы человека.



Трансэпителиальный транспорт Gly m 4 через монослой культуры клеток Caco-2 в обоих направлениях: A→B (всасывание) и B→A (секреция) без и в присутствии кверцетин-3,4'-диглюкозида

- Нами было показано, что изменение pH при протеолитической деградации, снижение ферментативной нагрузки и присутствие липидов может значительно снижать скорость переваривания данного аллергена в желудке человека.
- Полученные нами данные свидетельствуют в пользу того, что Gly m 4 при определённых условиях может достигать кишечника в иммуногенной форме.
- С использованием монослой клеток Caco-2, представляющего модель кишечного эпителия, мы впервые показали, что Gly m 4 может преодолевать эпителиальный барьер и индуцировать продукцию IL-4 зрелыми дендритными клетками *in vitro*.
- Кроме того, нами было показано, что некоторые из фрагментов аллергена, образующихся под действием ферментов желудочно-кишечного тракта, могут избирательно преодолевать эпителиальный барьер и индуцировать выработку иммунными клетками Th2-поляризующих цитокинов IL-5, IL-10 и IL-13, что может указывать на присутствие T-клеточного эпитопа среди образующихся протеолитических фрагментов.
- Впервые продемонстрировано изменение профиля продуцируемых иммунными клетками цитокинов в ответ на инкубацию с Gly m 4.
- Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что аллерген Gly m 4 сои потенциально может выступать в качестве сенсibilизатора иммунной системы человека.

1. Melnikova DN et al. (2021) Effect of Point Mutations on Structural and Allergenic Properties of the Lentil Allergen Len c 3. *Membranes (Basel)* (IF=4.106, $Q_{wos}1$, SJR=0.609, $Q_{sjr}2$)
2. Finkina EI et al. (2021) Do lipids influence gastrointestinal processing: A case study of major soybean allergen gly m 4. *Membranes (Basel)* (IF=4.106, $Q_{wos}1$, SJR=0.609, $Q_{sjr}2$)
3. Bogdanov IV et al. (2021) Investigation of Sensitization Potential of the Soybean Allergen Gly m 4 by Using Caco-2/Immune Cells Co-Culture Model. *Nutrients* (IF=5.717, $Q_{wos}1$, SJR=1.418, $Q_{sjr}1$)



АНАЛИЗ ПУБЛИКАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ОТДЕЛОВ и ЛАБОРАТОРИЙ ИБХ РАН 2021



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 – 2021

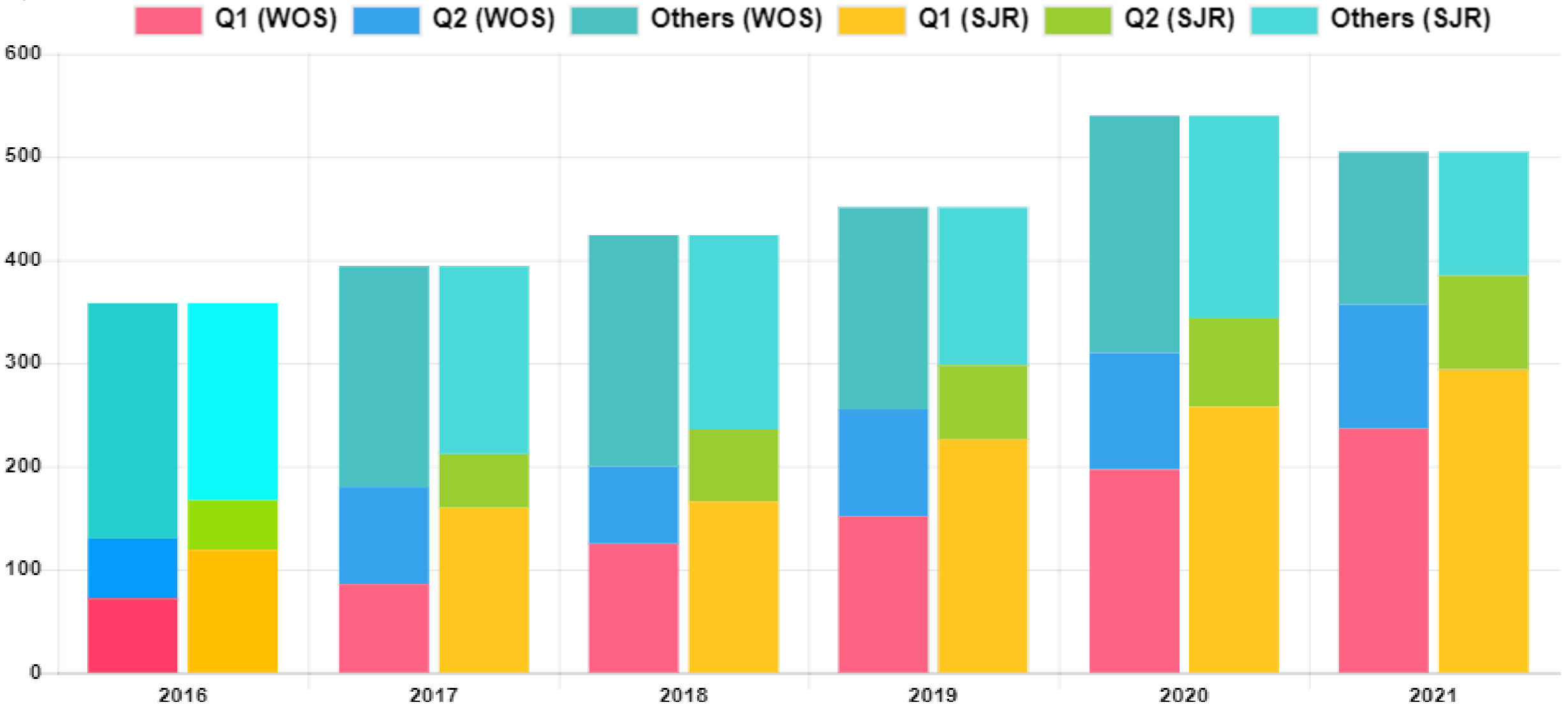
Год	Баллы WoS/Scopus	КБПР*	Кол-во статей	Кол-во в Q1 (WoS)	Кол-во в Q1 (Scopus)	Сумм. ИФ	Кол-во статей с ИФ>5	Кол-во статей с ИФ>9	Средний ИФ
2016	659 / 796		358	72 / 20%	119 / 33%	1115	54 / 15%	18 / 5%	3.12
2017	797 / 965		394	86 / 22%	160 / 41%	1225	57 / 14%	16 / 4%	3.11
2018	901 / 1039	1450	424	125 / 29%	166 / 39%	1513	100 / 24%	32 / 8%	3.57
2019	1092 / 1271	1442	451	152 / 34%	226 / 50%	1693	136 / 30%	26 / 6%	3.75
2020	1291 / 1445	1652	540	197 / 36%	258 / 48%	2386	181 / 34%	42 / 8%	4.42
2021	1437 / 1562	2104	511	239 / 47%	296 / 58%	2331	212 / 41%	35 / 7%	4.56

□ *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.



ДИНАМИКА ПУБЛИКАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ИБХ (общее число статей) 2016 – 2017 – 2018 – 2019 – 2020 – 2021

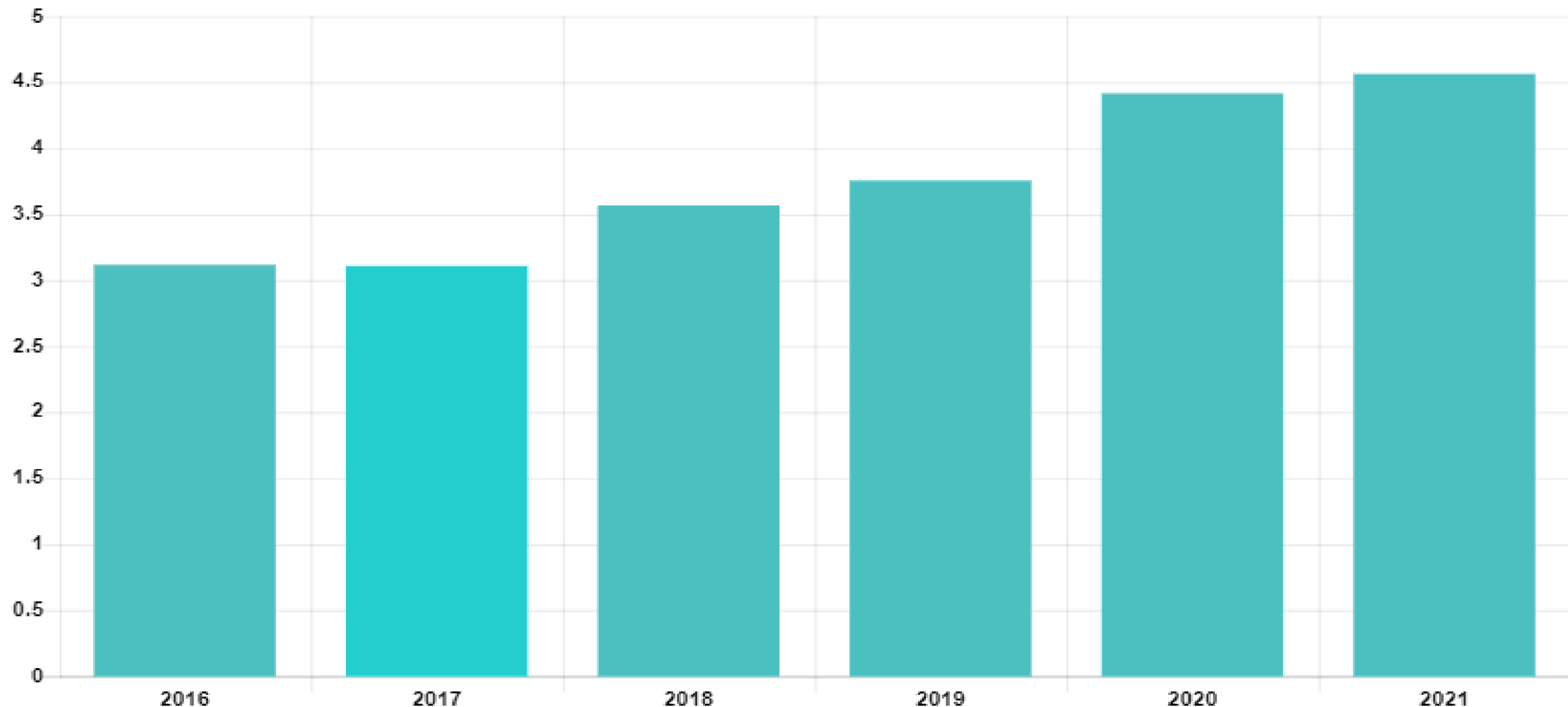
2021





ДИНАМИКА ПУБЛИКАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ИБХ (средний импакт-фактор) 2016 – 2017 – 2018 – 2019 – 2020 – 2021

2021





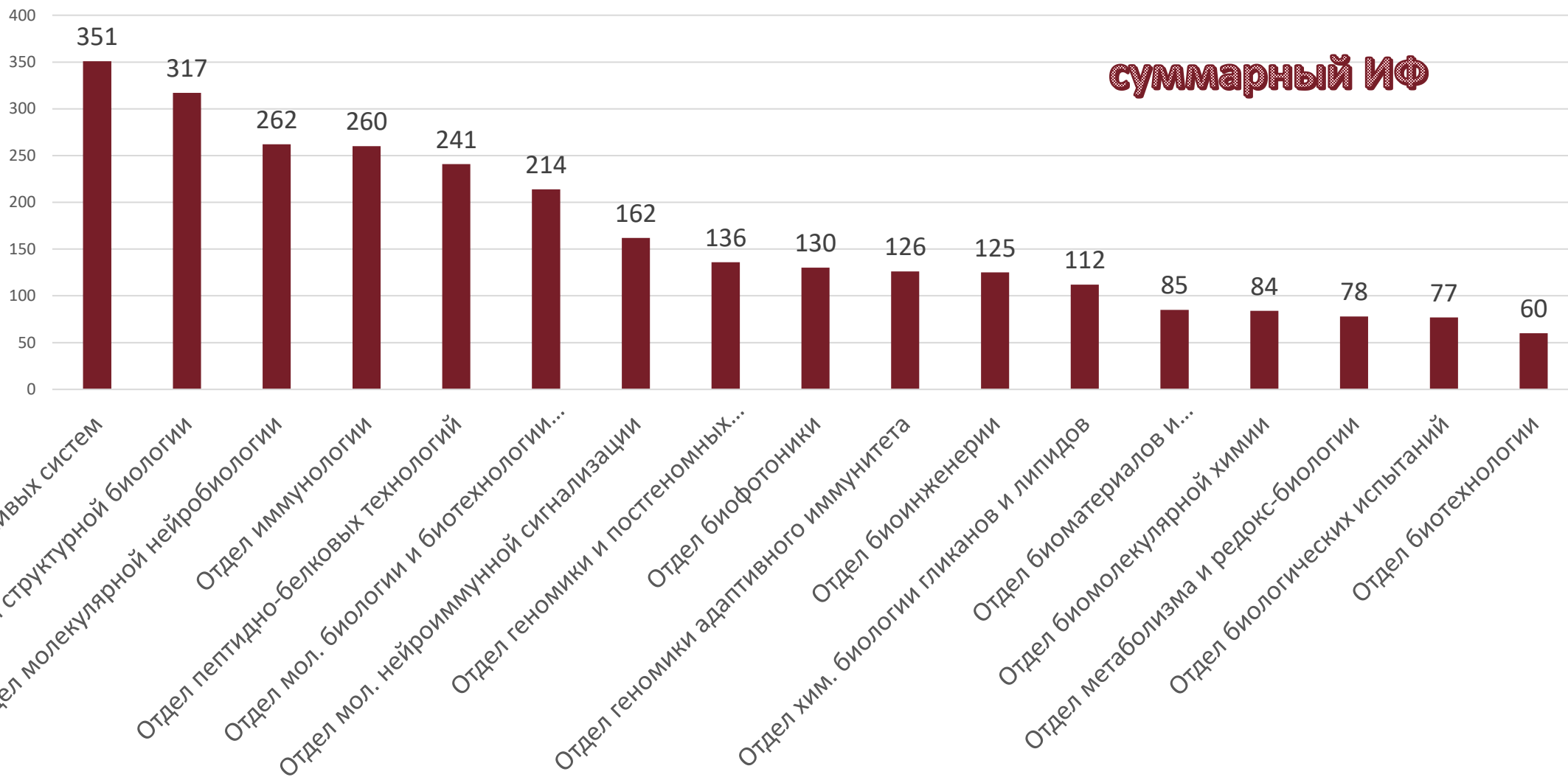
ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ ИБХ РАН



ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ ИБХ РАН

(суммарный импакт-фактор публикаций отделов)

2021

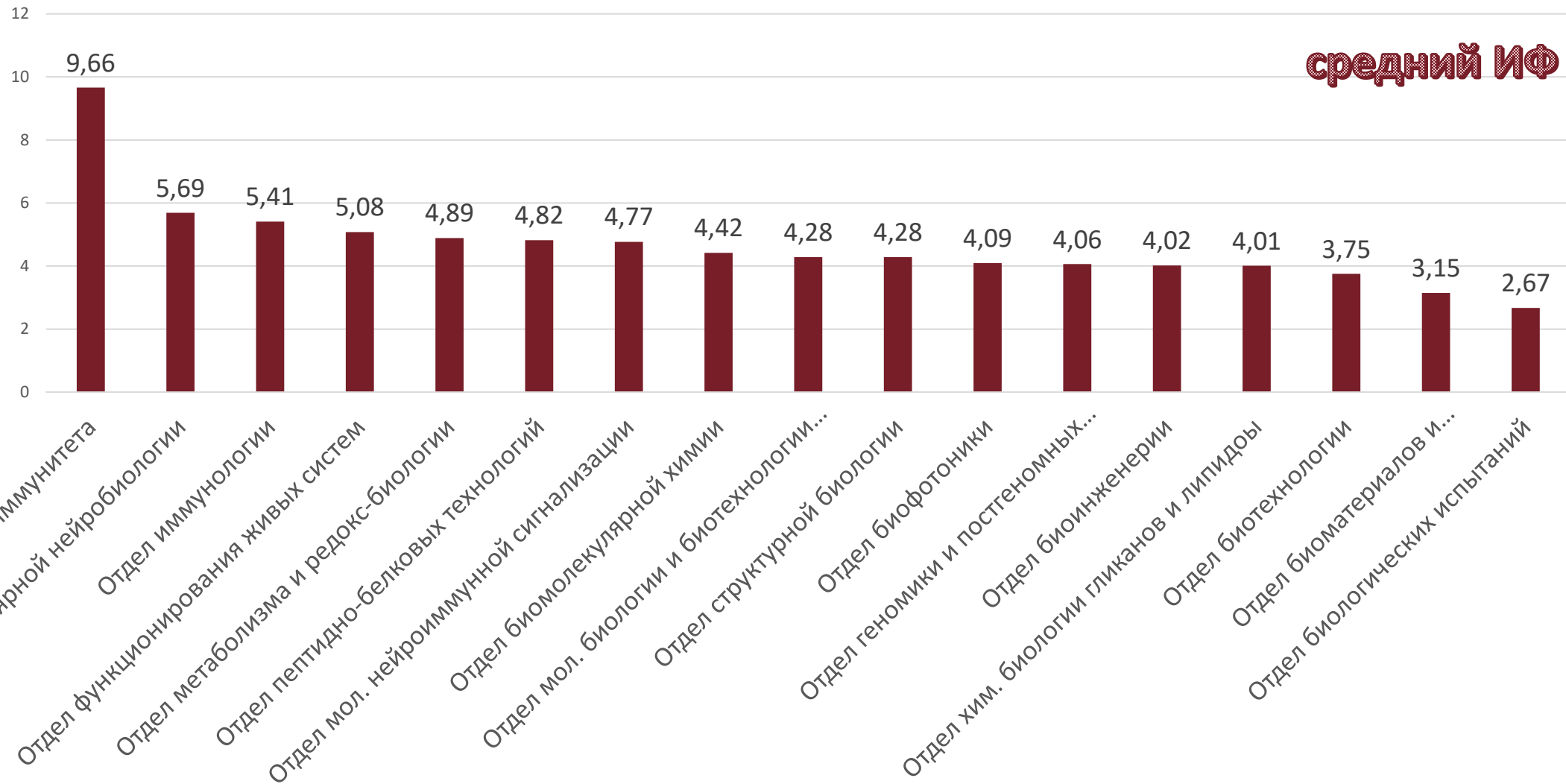




ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ ИБХ РАН

(средний импакт-фактор публикаций отделов)

2021

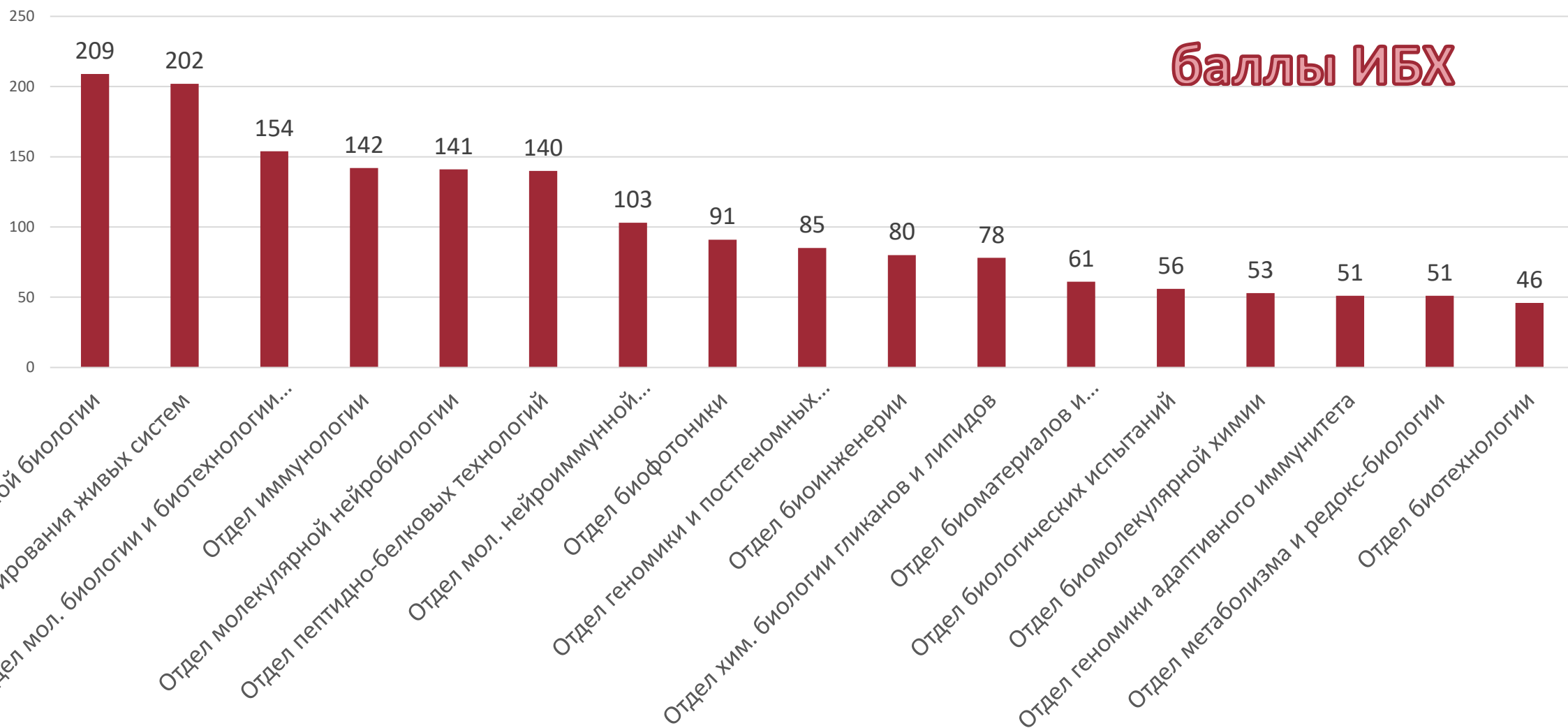


средний ИФ



ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ ИБХ РАН (в баллах ИБХ)

2021

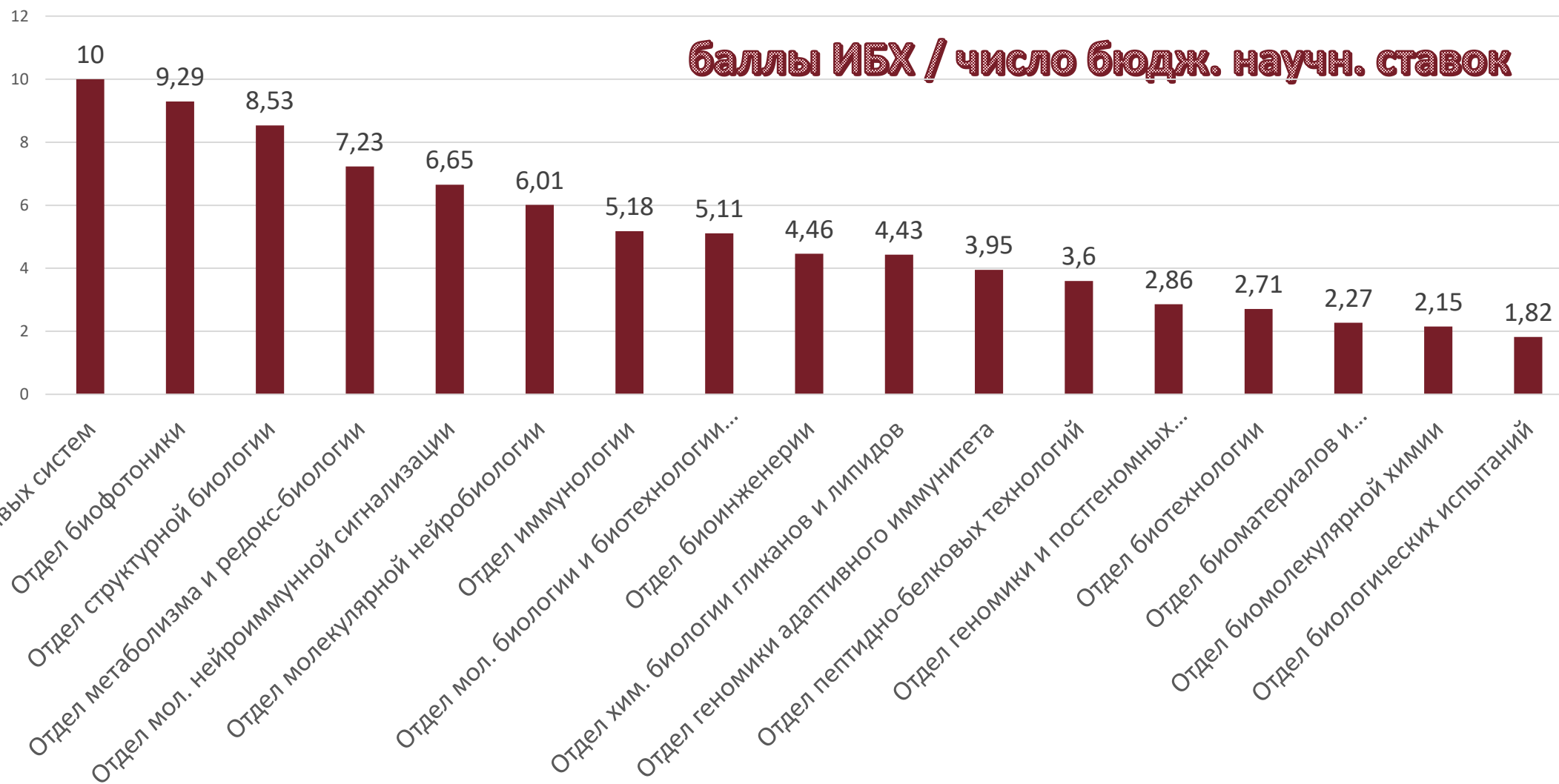




ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ОТДЕЛОВ ИБХ РАН

(в баллах ИБХ / число бюджетных научных ставок)

2021



СУММАРНЫЙ ИФ ПУБЛИКАЦИЙ ОТДЕЛОВ

- I. **Функционирования живых систем** *ОА Донцова*
- II. **Структурной биологии** *АС Арсеньев*
- III. **Молекулярной нейробиологии** *АВ Семьянов*
- IV. **Иммунологии** *РВ Петров*
- V. **Пептидно-белковых технологий** *ВТ Иванов*

СРЕДНИЙ ИФ ПУБЛИКАЦИЙ ОТДЕЛОВ

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

В БАЛЛАХ ИБХ (БЕЗ УЧЕТА ЧИСЛЕННОСТИ СОТРУДНИКОВ) ОТДЕЛЫ

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

В БАЛЛАХ ИБХ / КОЛ-ВО БЮДЖЕТНЫХ НАУЧНЫХ СТАВОК ОТДЕЛЫ

- I. **Функционирования живых систем** *ОА Донцова*
- II. **Биофотоники** *КА Лукьянов*
- III. **Структурной биологии** *АС Арсеньев*
- IV. **Метаболизма и редокс-биологии** *ВВ Белоусов*
- V. **Молекулярной нейроиммунной сигнализации**
ВИ Цетлин

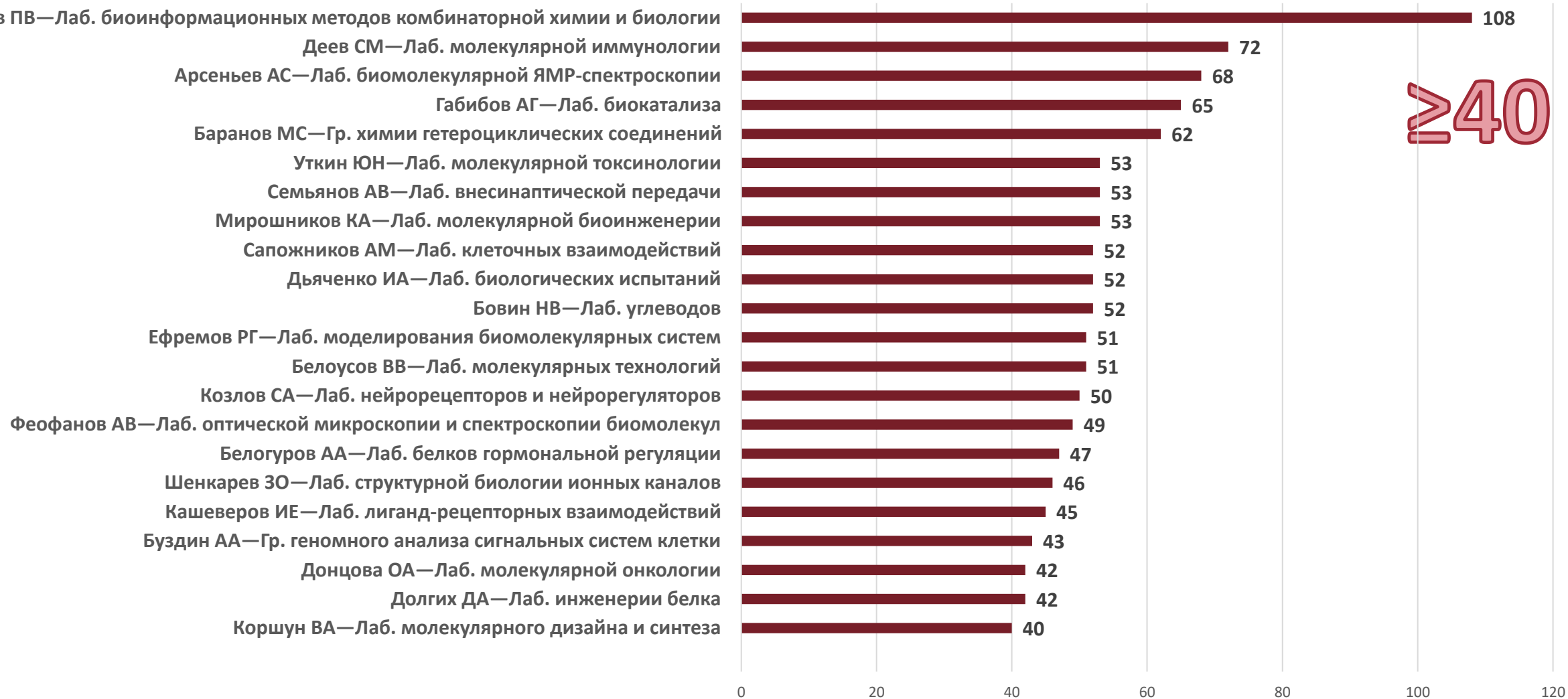


ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАБОРАТОРИЙ И ГРУПП ИБХ РАН



ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАБОРАТОРИЙ И ГРУПП ИБХ РАН (баллы ИБХ)

2021



≥40



ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАБОРАТОРИЙ И ГРУПП ИБХ РАН (баллы ИБХ)

2021



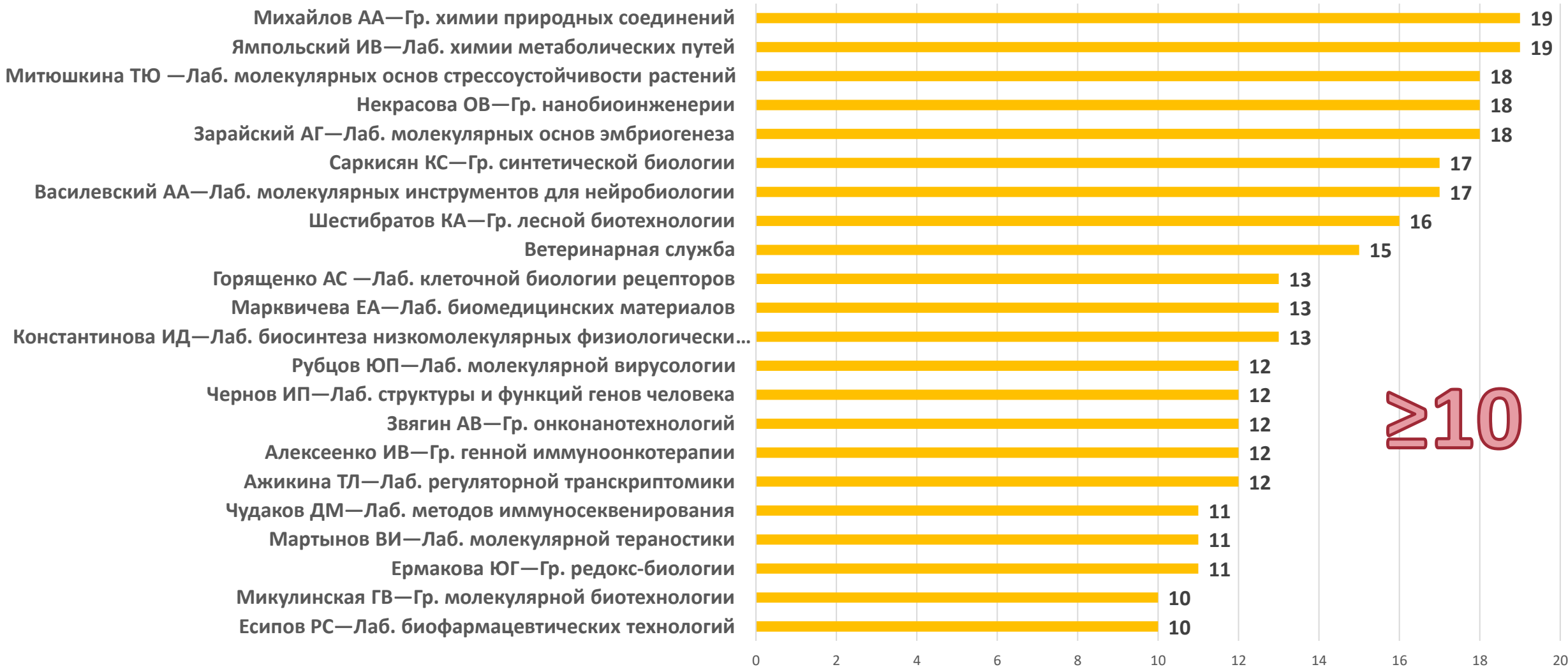
≥20



ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАБОРАТОРИЙ И ГРУПП ИБХ РАН

(баллы ИБХ)

2021



≥10



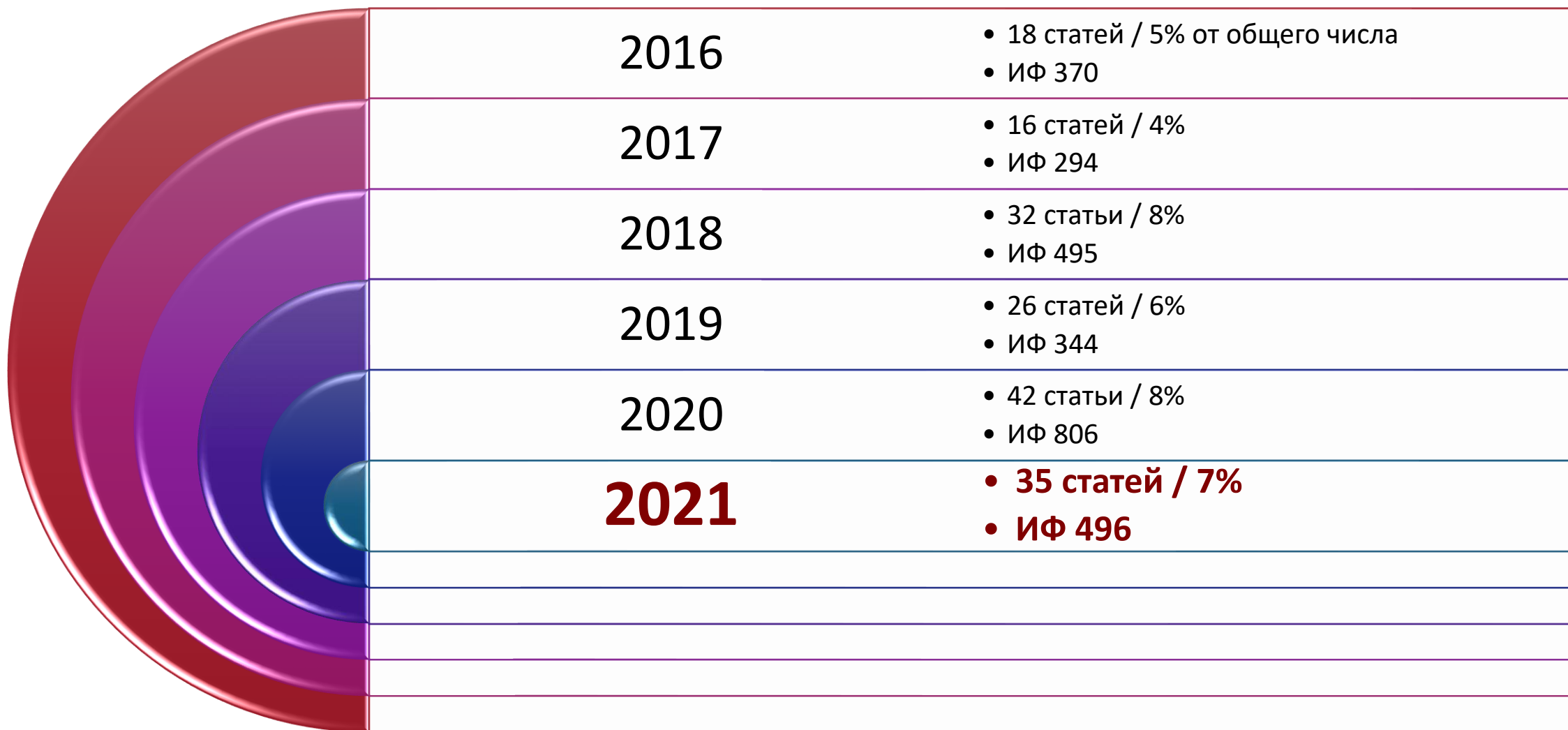
ПУБЛИКАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАБОРАТОРИЙ И ГРУПП ИБХ РАН (баллы ИБХ)

2021





ПУБЛИКАЦИИ ИБХ РАН С ИФ > 9





ПУБЛИКАЦИИ ИБХ РАН ЗА 2021 ГОД В ЖУРНАЛАХ с ИФ>9 (35 СТАТЕЙ)

2021

ПРОДОЛЖЕНИЕ НА СЛЕДУЮЩЕМ СЛАЙДЕ

Журнал	ИФ	Кол-во статей
IMMUNITY	31.745	1
NATURE METHODS	28.547	1
NATURE NEUROSCIENCE	24.884	1
SIGNAL TRANSDUCTION AND TARGETED THERAPY	18.187	2
MOLECULAR CELL	17.97	1
NUCLEIC ACIDS RESEARCH	16.971	3
ACS NANO	15.881	1
NATURE STRUCTURAL AND MOLECULAR BIOLOGY	15.369	1
ANGEWANDTE CHEMIE - INTERNATIONAL EDITION	15.336	2
NATURE COMMUNICATIONS	14.919	3
PROTEIN & CELL	14.87	1
TRENDS IN NEUROSCIENCES	13.837	1
TRENDS IN BIOCHEMICAL SCIENCES	13.807	1
NATURAL PRODUCT REPORTS	13.423	1
SMALL	13.281	1
ADVANCES IN COLLOID AND INTERFACE SCIENCE	12.984	1



Журнал	ИФ	Кол-во статей
REDOX BIOLOGY	11.799	1
THERANOSTICS	11.556	1
BIOSENSORS AND BIOELECTRONICS	10.618	1
JOURNAL OF CELL BIOLOGY	10.539	1
JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE	10.057	1
ONCOGENE	9.867	1
CHEMICAL SCIENCE	9.825	2
JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE	9.776	2
AGING CELL	9.304	1
CELLULAR AND MOLECULAR LIFE SCIENCES	9.261	2

	ИФ
Huang YN, Peng K, Popejoy AB, Hu J, Nowicki TS, Gold SM, Quintana-Murci L, Fuentes-Guajardo M, Shugay M , Greiff V, Burkhardt AM, Alachkar H, Mangul S (2021), Ancestral diversity is limited in published T cell receptor sequencing studies, <i>Immunity</i>	31,745
Peng K, Safonova Y, Shugay M , Popejoy AB, Rodriguez OL, Breden F, Brodin P, Burkhardt AM, Bustamante C, Cao-Lormeau VM, Corcoran MM, Duffy D, Fuentes-Guajardo M, Fujita R, Greiff V, Jönsson VD, Liu X, Quintana-Murci L, Rossetti M, Xie J, Yaari G, Zhang W, Abedalthagafi MS, Adekoya KO, Ahmed RA, Chang WC, Gray C, Nakamura Y, Lees WD, Khatri P, Alachkar H, Scheepers C, Watson CT, Karlsson Hedestam GB, Mangul S (2021), Diversity in immunogenomics: the value and the challenge, <i>Nat Methods</i>	28,547
Escartin C, Galea E, Lakatos A, OCallaghan JP, Petzold GC, Serrano-Pozo A, Steinhäuser C, Volterra A, Carmignoto G, Agarwal A, Allen NJ, Araque A, Barbeito L, Barzilai A, Bergles DE, Bonvento G, Butt AM, Chen WT, Cohen-Salmon M, Cunningham C, Deneen B, De Strooper B, Díaz-Castro B, Farina C, Freeman M, Gallo V, Goldman JE, Goldman SA, Götz M, Gutiérrez A, Haydon PG, Heiland DH, Hol EM, Holt MG, Iino M, Kastanenka KV, Kettenmann H, Khakh BS, Koizumi S, Lee CJ, Liddel SA, MacVicar BA, Magistretti P, Messing A, Mishra A, Molofsky AV, Murai KK, Norris CM, Okada S, Oliet SHR, Oliveira JF, Panatier A, Parpura V, Pekna M, Pekny M, Pellerin L, Perea G, Pérez-Nievas BG, Pfrieder FW, Poskanzer KE, Quintana FJ, Ransohoff RM, Riquelme-Perez M, Robel S, Rose CR, Rothstein JD, Rouach N, Rowitch DH, Semyanov A , Sirko S, Sontheimer H, Swanson RA, Vitorica J, Wanner IB, Wood LB, Wu J, Zheng B, Zimmer ER, Zorec R, Sofroniew MV, Verkhratsky A (2021), Reactive astrocyte nomenclature, definitions, and future directions, <i>Nat Neurosci</i>	24,884
Huang Z, Xie N, Illes P, Di Virgilio F, Ulrich H, Semyanov A , Verkhratsky A, Sperlagh B, Yu SG, Huang C, Tang Y (2021), From purines to purinergic signalling: molecular functions and human diseases, <i>Signal Transduct Target Ther</i>	18,187
Verkhratsky A, Illes P, Tang Y, Semyanov A (2021), The anti-inflammatory astrocyte revealed: the role of the microbiome in shaping brain defences, <i>Signal Transduct Target Ther</i>	18,187
Radzsheuskaya A, Shliaha PV, Grinev VV, Shlyueva D, Damhofer H, Koche R, Gorshkov V, Kovalchuk S , Zhan Y, Rodriguez KL, Johnstone AL, Keogh MC, Hendrickson RC, Jensen ON, Helin K (2021), Complex-dependent histone acetyltransferase activity of KAT8 determines its role in transcription and cellular homeostasis, <i>Mol Cell</i>	17,97
Fesenko I , Shabalina SA, Mamaeva A , Knyazev A , Glushkevich A, Lyapina I , Ziganshin R , Kovalchuk S , Kharlampieva D, Lazarev V, Taliensky M , Koonin EV (2021), A vast pool of lineage-specific microproteins encoded by long non-coding RNAs in plants, <i>Nucleic Acids Res</i>	16,971
Nersisyan S, Zhiyanov A , Shkurnikov M, Tonevitsky A (2021), T-CoV: a comprehensive portal of HLA-peptide interactions affected by SARS-CoV-2 mutations, <i>Nucleic Acids Res</i>	16,971
Kiniry SJ, Judge CE, Michel AM, Baranov PV (2021), Trips-Viz: an environment for the analysis of public and user-generated ribosome profiling data, <i>Nucleic Acids Res</i>	16,971
Zelepukin IV , Yaremenko AV , Ivanov IN , Yuryev MV, Cherkasov VR, Devev SM , Nikitin PI, Nikitin MP (2021), Long-Term Fate of Magnetic Particles in Mice: A Comprehensive Study, <i>ACS Nano</i>	15,881

	ИФ
Nadezhdin KD , Neuberger A, Trofimov YA , Krylov NA , Sinica V, Kupko N, Vlachova V, Zakharian E, Efremov RG , Sobolevsky AI (2021), Structural mechanism of heat-induced opening of a temperature-sensitive TRP channel, <i>Nat Struct Mol Biol</i>	15,369
Lesovoy DM , Georgoulia PS, Diercks T, Matečko-Burmann I, Burmann BM, Bocharov EV , Bermel W, Orekhov VY (2021), Unambiguous tracking of protein phosphorylation by fast high-resolution FOSY NMR, <i>Angew Chem Int Ed Engl</i>	15,336
Tyurin A , Alferova V, Paramonov A , Shuvalov M, Kudryakova G, Rogozhin E , Zherebker A, Brylev V , Chistov A , Baranova A , Birykov M, Ivanov I , Prokhorenko I , Grammatikova N, Kravchenko T , Isakova E, Mirchink E, Gladkikh E, Svirshchevskaya E , Mardanov A, Beletsky A, Kocharovskaya M , Kulyaeva V, Shashkov A, Nifantiev N, Apt A, Majorov K, Efimova S, Ravin N, Nikolaev E, Ostroumova O, Katrukha G, Lapchinskaya O, Dontsova O , Terekhov S , Osterman I, Shenkarev Z , Korshun VA (2021), Gausemycins A,B – cyclic lipoglycopeptides from Streptomyces sp, <i>Angew Chem Int Ed Engl</i>	15,336
Guo Y, Huang L, Zhang G, Yao Y, Zhou H, Shen S, Shen B, Li B, Li X, Zhang Q, Chen M, Chen D, Wu J, Fu D, Zeng X, Feng M, Pi C, Wang Y, Zhou X, Lu M, Li Y, Fang Y, Lu YY, Hu X, Wang S, Zhang W, Gao G, Adrian F, Wang Q, Yu F, Peng Y, Gabibov AG , Min J, Wang Y, Huang H, Stepanov A , Zhang W, Cai Y, Liu J, Yuan Z, Zhang C, Lou Z, Deng F, Zhang H, Shan C, Schweizer L, Sun K, Rao Z. A SARS-CoV-2 neutralizing antibody with extensive Spike binding coverage and modified for optimal therapeutic outcomes <i>Nat Commun</i>	14,919
Maschan M, Caimi PF, Reese-Koc J, Sanchez GP, Sharma AA, Molostova O, Shelikhova L, Pershin D, Stepanov A , Muzalevskii Y, Suzart VG, Otegbeye F, Wald D, Xiong Y, Wu D, Knight A, Oparaocha I, Ferencz B, Roy A, Worden A, Kruger W, Kadan M, Schneider D, Orentas R, Sekaly RP, de Lima M, Dropulić B (2021), Multiple site placement of care manufactured anti-CD19 CAR-T cells induce high remission rates in B-cell malignancy patients , <i>Nat Commun</i>	14,919
Armeev GA, Kniazeva AS, Komarova GA, Kirpichnikov MP , Shaytan AK (2021), Histone dynamics mediate DNA unwrapping and sliding in nucleosomes, <i>Nat Commun</i>	14,919
Zhou X, Wang H, Ji Q, Du M, Liang Y, Li H, Li F, Shang H, Zhu X, Wang W, Jiang L, Stepanov AV , Ma T, Gong N, Jia X, Gabibov AG , Lou Z, Lu Y, Guo Y, Zhang H, Yang X (2021), Molecular deconvolution of the neutralizing antibodies induced by an inactivated SARS-CoV-2 virus vaccine, <i>Protein Cell</i>	14,87
Semyanov A , Verkhatsky A (2021), Astrocytic processes: from tripartite synapses to the active milieu, <i>Trends Neurosci</i>	13,837

	ИФ
Makarova J, Turchinovich A, Shkurnikov M, Tonevitsky A (2021), Extracellular miRNAs and Cell–Cell Communication: Problems and Prospects, <i>Trends Biochem Sci</i>	13,807
Mikhaylov AA , Ikonnikova VA, Solyev PN (2021), Disclosing biosynthetic connections and functions of atypical angucyclinones with a fragmented C-ring, <i>Nat Prod Rep</i>	13,423
Ukrainskaya V , Rubtsov Y , Pershin D, Podoplelova N, Terekhov S , Yaroshevich I, Sokolova A, Bagrov D, Kulakovskaya E, Shipunova V , Deyev S , Ziganshin R , Chernov A , Telegin G , Maksimov E, Markov O, Oshchepkova A, Zenkova M, Xie J, Zhang H, Gabibov A , Maschan M, Stepanov A , Lerner R (2021), Antigen-Specific Stimulation and Expansion of CAR-T Cells Using Membrane Vesicles as Target Cell Surrogates, <i>Small</i>	13,281
Generalova AN , Oleinikov VA , Khaydukov EV (2021), One-dimensional necklace-like assemblies of inorganic nanoparticles: Recent advances in design, preparation and applications, <i>Adv Colloid Interface Sci</i>	12,984
Kelmanson IV , Shokhina AG , Kotova DA , Pochechuev MS, Ivanova AD , Kostyuk AI , Panova AS , Borodinova AA, Solotenkov MA, Stepanov EA, Raevskii RI , Moshchenko AA, Pak VV , Ermakova YG , van Belle GJC, Tarabykin V, Balaban PM, Fedotov IV, Fedotov AB, Conrad M, Bogeski I, Katschinski DM, Doepfner TR, Bähr M, Zheltikov AM, Belousov VV , Bilan DS (2021), In vivo dynamics of acidosis and oxidative stress in the acute phase of an ischemic stroke in a rodent model, <i>Redox Biol</i>	11,799
Rzhevskiy A, Kapitannikova A, Malinina P, Volovetsky A, Aboulkheyr Es H, Kulasinghe A, Thiery JP, Maslennikova A, Zvyagin AV , Ebrahimi Warkiani M (2021), Emerging role of circulating tumor cells in immunotherapy, <i>Theranostics</i>	11,556
Turaev AV , Isaakova EA, Severov VV, Bogomazova AN, Zatsepin TS, Sardushkin MV, Aralov AV , Lagarkova MA, Pozmogova GE, Varizhuk AM (2021), Genomic DNA i-motifs as fast sensors responsive to near-physiological pH microchanges, <i>Biosens Bioelectron</i>	10,618
Velichko AK, Ovsyannikova N, Petrova NV, Luzhin AV, Vorobjeva M, Gavrikov AS , Mishin AS , Kireev II, Razin SV, Kantidze OL (2021), Treacle and TOPBP1 control replication stress response in the nucleolus, <i>J Cell Biol</i>	10,539
Bragina O, Chernov V, Schulga A , Konovalova E , Garbukov E, Vorobyeva A, Orlova A, Tashireva L, Sorensen J, Zelchan R, Medvedeva A, Deyev S , Tolmachev V (2021), Phase I trial of 99mTc-(HE)3-G3, a DARPIn-based probe for imaging of HER2 expression in breast cancer, <i>J Nucl Med</i>	10,057



Lebedev T, Vagapova E, Spirin P, Rubtsov P, Astashkova O, Mikheeva A, Sorokin M , Vladimirova U , Suntsova M , Konovalov D, Roumiantsev A, Stocking C, Buzdin A , Prassolov V (2021), Growth factor signaling predicts therapy resistance mechanisms and defines neuroblastoma subtypes, <i>Oncogene</i>	9,867
Dovzhenko D, Lednev M, Mochalov K , Vaskan I , Rakovich Y, Karaulov A, Nabiev I (2021), Polariton-assisted manipulation of energy relaxation pathways: donor–acceptor role reversal in a tuneable microcavity, <i>Chem Sci</i>	9,825
Mineev KS , Goncharuk SA , Goncharuk MV , Povarova NV , Sokolov AI , Baleeva NS , Smirnov AY , Myasnyanko IN , Ruchkin DA, Bukhdruker S, Remeeva A, Mishin A, Borshchevskiy V, Gordeliy V, Arseniev AS , Gorbachev DA , Gavrikov AS , Mishin AS , Baranov MS (2021), NanoFAST: structure-based design of a small fluorogen-activating protein with only 98 amino acids, <i>Chem Sci</i>	9,825
Shramova EI , Shilova MV , Ryabova AV, Dzhalilova DS, Zolotova NA, Telegin GB , Deyev SM , Proshkina GM (2021), Barnase*Barstar-guided two-step targeting approach for drug delivery to tumor cells in vivo, <i>J Control Release</i>	9,776
Mirkasymov AB , Zelepukin IV , Nikitin PI, Nikitin MP , Deyev SM (2021), In vivo blockade of mononuclear phagocyte system with solid nanoparticles: Efficiency and affecting factors, <i>J Control Release</i>	9,776
Popov A , Brazhe A , Denisov P , Sutyagina O, Li L, Lazareva N, Verkh ratsky A, Semyanov A (2021), Astrocyte dystrophy in ageing brain parallels impaired synaptic plasticity, <i>Aging Cell</i>	9,304
Siniavin AE , Streltsova MA , Nikiforova MA, Kudryavtsev DS , Grinkina SD , Gushchin VA, Mozhaeva VA , Starkov VG , Osipov AV , Lummis SCR, Tsetlin VI , Utkin YN (2021), Snake venom phospholipase A2s exhibit strong virucidal activity against SARS-CoV-2 and inhibit the viral spike glycoprotein interaction with ACE2, <i>Cell Mol Life Sci</i>	9,261
Shirmanova MV, Gorbachev DA , Sarkisyan KS , Parnes AP, Gavrina AI, Polozova AV, Kovaleva TF, Snopova LB, Dudenkova VV, Zagaynova EV, Lukyanov KA (2021), FUCCI-Red: a single-color cell cycle indicator for fluorescence lifetime imaging, <i>Cell Mol Life Sci</i>	9,261



КАК ОЦЕНИВАЕТ СТАТЬИ МИНОБРНАУКИ?

КБПР – КОМПЛЕКСНЫЙ БАЛЛ ПУБЛИКАЦИОННОЙ РЕЗУЛЬТАТИВНОСТИ

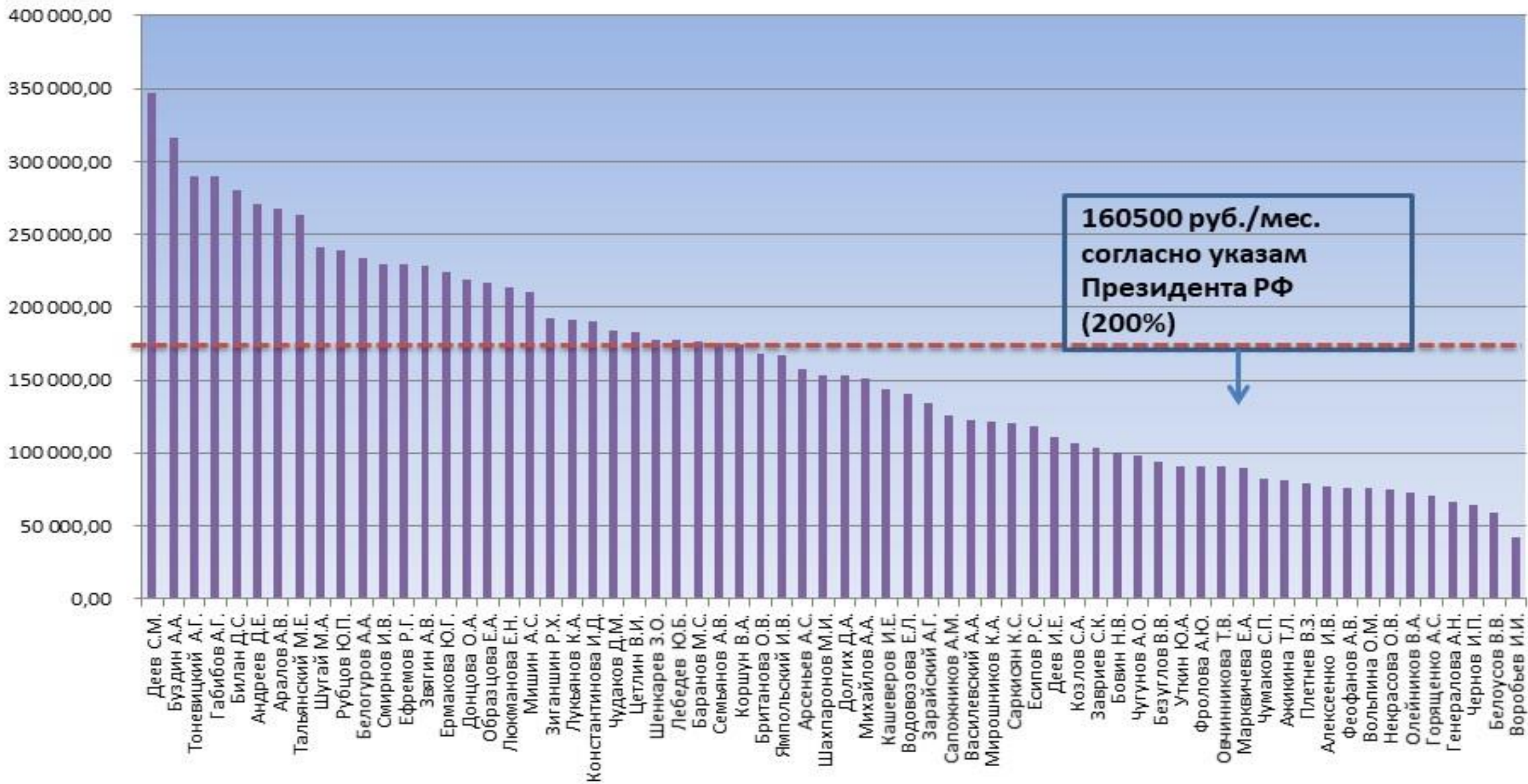
2021

СТАТЬИ	КБПР	Место по ИФ /ИФ
Mineev KS , Goncharuk SA , Goncharuk MV , Povarova NV , Sokolov AI , Baleeva NS , Smirnov AY , Myasnyanko IN , Ruchkin DA, Bukhdruker S, Remeeva A, Mishin A, Borshchevskiy V, Gordeliy V, Arseniev AS , Gorbachev DA , Gavrikov AS , Mishin AS , Baranov MS (2021), NanoFAST: structure-based design of a small fluorogen-activating protein with only 98 amino acids, <i>Chem Sci</i>	13,1579	28 / 9,825
Fesenko I , Shabalina SA, Mamaeva A , Knyazev A , Glushkevich A, Lyapina I , Ziganshin R , Kovalchuk S , Kharlampieva D, Lazarev V, Taliensky M , Koonin EV (2021), A vast pool of lineage-specific microproteins encoded by long non-coding RNAs in plants, <i>Nucleic Acids Res</i>	12,5	7 / 16,971
Siniavin AE , Streltsova MA , Nikiforova MA, Kudryavtsev DS , Grinkina SD , Gushchin VA, Mozhaeva VA , Starkov VG , Osipov AV , Lummis SCR, Tsetlin VI , Utkin YN (2021), Snake venom phospholipase A2s exhibit strong virucidal activity against SARS-CoV-2 and inhibit the viral spike glycoprotein interaction with ACE2, <i>Cell Mol Life Sci</i>	11,6667	33 / 9,261
Generalova AN , Oleinikov VA , Khaydukov EV (2021), One-dimensional necklace-like assemblies of inorganic nanoparticles: Recent advances in design, preparation and applications, <i>Adv Colloid Interface Sci</i>	11,1111	21 / 12,984
Shramova EI , Shilova MV , Ryabova AV, Dzhaliilova DS, Zolotova NA, Telegin GB , Deyev SM , Proshkina GM (2021), Barnase*Barstar-guided two-step targeting approach for drug delivery to tumor cells in vivo, <i>J Control Release</i>	10,8333	30 / 9,776
Mikhaylov AA , Ikonnikova VA, Solyev PN (2021), Disclosing biosynthetic connections and functions of atypical angucyclinones with a fragmented C-ring, <i>Nat Prod Rep</i>	10	19 / 13,423
Ukrainskaya V , Rubtsov Y , Pershin D, Podoplelova N, Terekhov S , Yaroshevich I, Sokolova A, Bagrov D, Kulakovskaya E, Shipunova V , Deyev S , Ziganshin R , Chernov A , Telegin G , Maksimov E, Markov O, Oshchepkova A, Zenkova M, Xie J, Zhang H, Gabibov A , Maschan M, Stepanov A , Lerner R (2021), Antigen-Specific Stimulation and Expansion of CAR-T Cells Using Membrane Vesicles as Target Cell Surrogates, <i>Small</i>	7,36111	20 / 13,281
Mirkasymov AB , Zelepukin IV , Nikitin PI, Nikitin MP , Deyev SM (2021), In vivo blockade of mononuclear phagocyte system with solid nanoparticles: Efficiency and affecting factors, <i>J Control Release</i>	6,66667	31 / 9,776

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



РАЗМЕР СРЕДНЕМЕСЯЧНОЙ ОПЛАТЫ ТРУДА НАУЧНЫХ СОТРУДНИКОВ ПО ПОДРАЗДЕЛЕНИЯМ ИНСТИТУТА В 2021 ГОДУ



Wishing You A Very
Happy New Year





[gifs.com](https://www.gifs.com)

