



**СБОРНИК ТЕЗИСОВ
НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ**

**«БИОРЕСУРСНЫЕ КОЛЛЕКЦИИ ЖИВОТНЫХ-
БИОМОДЕЛЕЙ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ -
НОВЫЕ ГОРИЗОНТЫ ЛЕЧЕНИЯ СОЦИАЛЬНО-
ЗНАЧИМЫХ ПАТОЛОГИЙ ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО
ОРГАНИЗМА СКВОЗЬ ПРИЗМУ ТРАНСЛЯЦИОННОЙ
МЕДИЦИНЫ»**

**18 ноября 2022
Москва**

Организаторы:

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

- Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко».

Мероприятия проводятся при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-1067 от 28.09.2021 г. о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий).

Программный комитет:

- Габибов А.Г., академик РАН, д.х.н., профессор;
- Белогуров А.А., профессор РАН, д.х.н.;
- Мещеряков Ф.А.;
- Телегин Г.Б., к.б.н., доцент;
- Чернов А.С., к.б.н.;
- Асютин Д.С., к.м.н.;
- Коновалов Н.А., академик РАН, д.м.н., профессор;
- Спаллоне А., профессор.

ГЕННЫЕ КОМПЛЕКСЫ HLA-DR, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ ЗАЩИТУ И ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К РАССЕЯННОМУ СКЛЕРОЗУ ПО-РАЗНОМУ СВЯЗЫВАЮТСЯ С ЭНЦЕФАЛИТОГЕННЫМ ФРАГМЕНТОМ ОСНОВНОГО БЕЛКА МИЕЛИНА

Мамедов А.Э.¹, Курбацкая И.Н.¹, Смирнов И.В.^{1,2}, Белогуров А.А.^{1,3}

¹Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; ²Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань; ³МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Предрасположенность к рассеянному склерозу (РС), хроническому аутоиммунному заболеванию центральной нервной системы, обусловлена различными факторами. Генетическая составляющая считается одним из важнейших факторов. Гены HLA класса II вносят наибольший вклад в развитие рассеянного склероза. Группа аллелей HLA-DRB1*15 считается одним из основных генетических факторов риска, предрасполагающих к РС. Показано, что группа аллелей HLA-DRB1*01 обладает протективным действием по отношению к этому заболеванию в русской популяции. В этой работе мы сравнили связывание энцефалитогенного фрагмента основного белка миелина (МВР) с двумя комплексами HLA-DR, которые обеспечивают защиту и предрасположенность к РС: HLA-DR1 (HLA-DRB1*0101) и HLA-DR15 (HLA-DRB1*1501) соответственно. Мы обнаружили, что миелиновый пептид МВР88-100 связывается с HLA-DR1 со скоростью почти на порядок ниже, чем вирусный пептид гемагглютинина (НА), а также по сравнению с МВР85-97 и вирусным рр65 в контексте HLA-DR15. Структура С-концевой части пептида играет ключевую роль в связывании с HLA-DR1 при том, что N-концевые части пептидов обладают одинаковым сродством. IC50 миелинового пептида МВР88-100, конкурирующего с вирусным НА за связывание с HLA-DR1, почти на порядок выше, чем в случае НА, а также по сравнению с МВР85-97 и вирусным рр65 в контексте HLA-DR15. Таким образом, аутоантигенный МВР не способен конкурировать с вирусным пептидом за связывание с протективным HLA-DR1. Однако данный миелиновый фрагмент более конкурентоспособен, чем вирусный пептид в отношении HLA-DR15.

НОВАЯ ПАРАДИГМА АДОПТИВНОЙ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ РАКА

Калинин Р.С.¹, Шипунова В.О.¹, Волков Д.В.¹, Черников И.В.², Зенкова М.А.², Шульга А.А.¹, Деев С.М.¹, Степанов А.В.¹, Габиров А.Г.¹

¹Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва; ²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

В борьбе с опухолевыми заболеваниями наиболее перспективным направлением персонализированной медицины является иммунная клеточная терапия с применением Т-клеток, модифицированных химерными антигенными рецепторами (CAR-T). CAR-T терапия позволила добиться впечатляющих результатов в борьбе с гематологическими онкологическими заболеваниями. Однако широкое применение CAR-T терапии затруднено из-за осложнений, ассоциированных с неконтролируемой гиперактивацией и неспецифической цитотоксичностью. В результате чего возникает риск развития опасных для жизни побочных эффектов, таких как «цитокиновый шторм» и синдром лизиса опухоли. Поэтому сохранение возможности контроли-ровать терапевтические клетки в режиме реального времени является крайне актуальной задачей. Для создания контролируемых CAR-T нами была изменена основная парадигма адоптивной клеточной терапии, которая подразумевает непосредственный контакт опухолевой клетки и CAR-T клетки. Новизна технологии заключается в применении третьего компонента, который является промежуточным звеном между раковыми и терапевтическими клетками. Модульность такого подхода также позволит расширить диапазон антигенов при использовании одних и тех же CAR-T клеток. Нами выбрана молекула-посредник в состав которой входит дарпин-миметик антитела, распознающий раковый антиген HER2 нео, и слитую с ним барназу (бактериальная РНКаза), которая специфически связывается со своим природным ингибитором – барстаром, он в свою очередь входит в распознающий домен CAR. Мы показали работу нашего подхода на репортерной клеточной системе на основе линии Jurkat с NFAT промотором, под которым стоит ген люциферазы, а также на настоящих CAR-T показали дозозависимую цитотоксичность. Стоит заметить, что без молекулы-посредника CAR-T анергичны, что в дальнейшем позволит сделать безопасную и контролируемую CAR-T терапию. Далее планируется провести эксперименты *in vivo*.

АНАЛИЗ ИСХОДОВ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ СО СКЛЕРОЗОМ ГИППОКАМПА ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Пицхелаури Д.И., Асютин Д.С., Коновалов Н.А.

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко», Москва.

Проведен анализ исходов лечения больных со склерозом гиппокама после антеромедиальной височной лобэктомии и селективной амигдалогиппокампэктомии. Проведено хирургическое вмешательство 101 пациенту. Возраст пациентов варьировал от 16 лет до 56 лет (медиана 28 лет). Соотношение женщин и мужчин 1.45 : 1. Продолжительность заболевания эпилепсией варьировала от 3 до 45 лет и в среднем составила 23 года.

Хирургическое лечение проводилось с использованием двух методов. Антеромедиальная височная лобэктомия и селективная амигдалогиппокампэктомия. Длительность наблюдения после хирургического лечения составила от 2 до 8 лет, медиана 4 года. Исходы хирургического лечения оценивались по шкале Engel. Нейрокогнитивные нарушения в группах антеромедиальной височной лобэктомии и селективной амигдалогиппокампэктомии не различались, однако психические нарушения, развивающиеся после операции, преобладали у пациентов группы с антеромедиальной лобэктомией. Частота развития нарушений полей зрения, как после антеромедиальной височной лобэктомии так и селективной амигдалогиппокампэктомии одинакова. Послеоперационные осложнения развились у 8 пациентов. Таким образом, селективная амигдалогиппокампэктомия не уступает по эффективности антеромедиальной височной лобэктомии, более того сопряжена с меньшим риском развития осложнений после операции.

КОНТРАСТНОЕ УСИЛЕНИЕ В ИССЛЕДОВАНИИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКИХ КИСТ СПИННОГО МОЗГА У КРЫС

Родионов М.В., Чернов А.С., Телегин Г.Б.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН (Филиал), Пущино.

Определённый интерес для исследователя представляет вопрос о том, существует ли сообщение посттравматических кист с ликворными пространствами спинного мозга (центральным каналом и субарахноидальным пространством), что позволило бы уточнить состав содержимого кист, а также обосновать способы доставки лекарственных препаратов в полость посттравматической кисты путём введения их в ликворные пространства цервикальным или люмбальным доступом.

В работе использовали 19 самцов крыс стока SD с весом 280-420 г с моделью травмы спинного мозга (на уровне Th13) (Биоресурсная коллекция ИБХ РАН). В качестве контрастирующего агента использовали «Омнипак-240» (йогексол в концентрации 240 мг йода в 1 мл, GE Healthcare AS, Норвегия). 6 интактных крыс служили контрольной группой, в ней введение контрастного вещества проводилось интрацистернально иглой G29 со скоростью 25-100 мкл/с. В первой опытной группе (7 животных) введение контраста по аналогичной методике проводилось в сроки 14-21 день после травмы, во второй опытной группе из 6 животных контрастирование проводилось на уровне L1-L3 интрамедуллярно болюсно в объёме 50-100 мкл в сроки 0,7, 14, 21 и 30 дней после травмы. Немедленно после инъекции выполнялась компьютерная томография позвоночника и спинного мозга на аппарате MRS*СТ/PET (MR Solution, Великобритания).

При введении контрастного вещества в большую цистерну 11 из 13 (85%) погибали в сроки от 1 до 10 минут в результате остановки дыхания и сердечной деятельности. При этом наблюдалось чёткое окрашивание центрального канала и посттравматической кисты при её наличии. Во второй опытной группе гибели животных не наблюдали, визуализировалось чёткое окрашивание центрального канала спинного мозга и посттравматической кисты соответственно срокам после травматизации.

Таким образом, введение контрастного вещества в большую цистерну и паренхиму спинного мозга при определённых условиях позволяет добиться контрастирования центрального канала и посттравматической кисты, что потенциально представляет интерес в лечении спинальной травмы.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНТРАОПЕРАЦИОННОГО ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА (ИОМ) В ХИРУРГИИ ГЛИОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПОДКОРКОВОЙ ОБЛАСТИ, ПРИЛЕГАЮЩИХ К КОРТИКОСПИНАЛЬНОМУ ТРАКТУ

Каххаров Р.А., Коновалов А.Н.

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр
нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко», Москва.

Проведена оценка эффективности интраоперационного электрофизиологического мониторинга (ИОМ) в хирургии глиом головного мозга подкорковой области, прилегающих к кортикоспинальному тракту. В исследование были включены 34 пациента с глиомами различной степени злокачественности головного мозга подкорковой области, прилегающих к кортикоспинальному тракту (16 мужского пола и 18 женского). Средний возраст пациентов составил 9,4 лет (от 3 до 17 лет).

Ведущим клиническим симптомом у всех пациентов являлся контралатеральный гемипарез различной степени выраженности. В представленной группе пациентов преобладали глиомы низкой степени злокачественности. Интраоперационный электрофизиологический мониторинг в виде транскраниальных моторных вызванных потенциалов (ТК МВП) и прямой стимуляции (картирования) кортикоспинального тракта использовался у 19 пациентов. При этом у всех пациентов при прямой стимуляции в ложе опухоли получены МВП от мышц конечностей — идентифицированы кортикоспинальные тракты. У 15 пациентов ИОМ не проводился. Результаты хирургического лечения оценивались по радикальности удаления и по постоперационному функциональному статусу.

В настоящее время при удалении глиом, прилегающих к кортикоспинальному тракту, ИОМ является неотъемлемой частью операции. Функциональный статус пациентов после операции зависит от морфологии глиом, радикальности операции, результатов ИОМ. Большой процент радикальности операции с сохранением функционального статуса достигается при применении ИОМ — транскраниальных моторных вызванных потенциалов и прямой стимуляции кортикоспинального тракта в глубине операционной раны. Появление перманентного неврологического дефицита преобладает при попытке радикальной резекции инфильтративных злокачественных глиом.

ПРОЦЕССИНГ И ПРЕЗЕНТАЦИЯ МИЕЛИНОВЫХ АНТИГЕНОВ В ОСНОВЕ ПАТОГЕНЕЗА АУТОИММУННОЙ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ

Белогуров А.А., Кудряева А.А.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

Рассеянный склероз (РС) – это системное аутоиммунное демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы человека. Среди главных аутоантигенов при РС выделяют несколько белков миелиновой оболочки, в том числе основной белок миелина (МВР), в значительных количествах присутствующий в мембране олигодендроцитов. Нами было установлено, что МВР принадлежит к крайне малочисленной группе белков, способных подвергаться протеолизу 26S протеасомой в отсутствие молекул убиквитина. В молекулярном механизме гидролиза МВР протеасомой задействован новый класс убиквитин-независимых дегронов и их заряд-опосредованное связывание с регуляторной субъединицей REG α . Интересно, что природные полиамины, включая спермин, имеют функцию модуляторов протеасомной активности. Нами было установлено, что при развитии экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (ЕАЕ) – животной модели рассеянного склероза – в головном мозге иммунизированных животных конститутивная протеасома в значительной степени замещается иммунопротеасомой, при этом имуносубъединица $\beta 1i$ локализуется преимущественно в олигодендроцитах. Показано, что повышенное содержание иммунопротеасомы в головном мозге мышей с ЕАЕ приводит к образованию повышенного количества ряда патогенных пептидов МВР, презентация которых провоцирует атаку цитотоксических лимфоцитов на олигодендроциты. Специфический ингибитор имуносубъединицы $\beta 1i$ эффективно подавлял развитие ЕАЕ у экспериментальных животных. Полученные факты указывают на очевидную связь между убиквитин-независимой протеолитической активностью иммунопротеасомы в отношении основного белка миелина и развитием рассеянного склероза, а также на перспективность специфических ингибиторов иммунопротеасомы как потенциальных лекарственных средств.

НАРУШЕНИЕ СОЗРЕВАНИЯ ТРАНЗИЕНТНЫХ В-РЕГУЛЯТОРНЫХ КЛЕТОК СВЯЗАНО С ПРОГРЕССИРОВАНИЕМ ПУЗЫРЧАТКИ

**Овчинникова Л.А., Абрикосова В.А., Ларина Е.Н., Баранова М.Н.,
Ломакин Я.А., Мокрушина Ю.А.**

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, Москва

Одним из тяжёлых аутоиммунных заболеваний, охватывающее почти все возрастные группы с летальностью до 50% является пузырчатка. Оно проявляется формированием внутриэпидермальных пузырей в результате акантолиза. Для ослабления симптомов заболевания в настоящее время применяется главным образом системная глюкокортикостероидная терапия (ГКС). В целях снижения доз ГКС разрабатываются методы лечения пузырчатки моноклональными антителами. На сегодняшний день единственным рекомендованным к использованию в клинической практике подобным препаратом является ритуксимаб (моноклональные антитела к CD20 антигену В-лимфоцитов). Однако его применение приводит к подавлению не только патологических, но и нормальных В-лимфоцитов. Решением данной проблемы может стать подбор иммунолигандов, специфичных к популяции аутореактивных В-клеток. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что у пациентов с диагностированной пузырчаткой уровни антител к различным фрагментам десмоглеина неодинаковы. В данной работе были установлены различия в профилях анти-тельного ответа по отношению к доменам десмоглеина и к полноразмерному белку, а также показана положительная корреляция между уровнем антител и количеством аутореактивных В-клеток к фрагментам десмоглеина. Было определено, что доля аутореактивных В-клеток у пациентов с диагностированной пузырчаткой составляет 0.09–0.16%. Кроме того, полученные результаты показали, что подход двойного позитивного окрашивания клеток может быть успешно использован для дифференцирования антигенспецифичности В-клеток при аутоиммунных заболеваниях. Профилирование В-лимфоцитов пациентов с пузырчаткой расширяет возможности для разработки персонализированной терапии иммунолигандами на основе рекомбинантных доменов десмоглеина, слитых с константным доменом иммуноглобулина человека.

ВЫБОР ТАКТИКИ ЛЕЧЕНИЯ ПОРОКОВ РАЗВИТИЯ КАПИЛЛЯРНЫХ И ВЕНОЗНЫХ СОСУДОВ СТВОЛА ГОЛОВНОГО МОЗГА

Гаврюшин А.В.

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр
нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко», Москва.

Сложность выбора тактики лечения кавернозных ангиом (КА) ствола головного мозга обусловлена с одной стороны высокой вероятностью развития полной спонтанной ремиссии, особенно после первого кровоизлияния, а с другой стороны риском необратимого нарастания неврологической симптоматики после операции.

Проведен анализ отдаленных результатов как хирургического (139 больных), так и консервативного (103 больных) лечения пациентов с этой формой патологии в период с 2000 по 2015 г. У большинства пациентов (85%) в отдаленном послеоперационном периоде состояние постепенно улучшалось, это происходило как у больных с ранним регрессом симптомов, начавшимся непосредственно после операции, так и у больных, у которых сразу после операции неврологический синдром оставался без динамики или усугубился. Наиболее значительно симптоматика регрессировала у пациентов, оперированных по поводу гематом. Более половины (57%) пациентов стали фактически здоровыми, вернулись к полноценной жизни. При кавернозных ангиомах, оперированных на стадии кровоизлияния у 35% больных симптоматика в отдаленном периоде регрессировала, по сути, полностью, а у больных с КА оперированными вне стадии кровоизлияния отмечалось существенное улучшение состояния в катамнезе по сравнению с ранним послеоперационным периодом. Повторные кровоизлияния произошли у 15% пациентов из всей группы прооперированных больных, в среднем спустя 3 года после операции. В группе консервативного ведения за все время катамнестического наблюдения повторные кровоизлияния наблюдались лишь у 9% пациентов.

В плане прогноза конечного отдаленного исхода хирургического лечения помимо субстрата заболевания имеет значение характер динамики клинических симптомов непосредственно после операции. Хирургическое лечение существенно снижает риск повторных кровоизлияний.

РОЛЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НЕЙРОХИРУРГИИ В ИССЛЕДОВАНИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Спаллоне А.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А.

Овчинникова РАН, Москва.

Neurological Centre of Latium - NCL, Rome, Italy.

Использование современных высоких технологий минимально-инвазивной хирургии в наиболее сложном разделе нейрохирургии – хирургии основания черепа. Методики минимально инвазивной хирургии направлены на оптимальную реализацию основополагающих нейрохирургических принципов технической возможности, анатомической доступности и физиологической дозволенности хирургических манипуляций на структурах центральной нервной системы. Революционное развитие нейрохирургии обусловлено новыми возможностями методов нейродиагностики с получением трехмерных изображений головного мозга и его ключевых костных, нервных и сосудистых структур во взаимоотношении с патологическими образованиями. Авторы в своей работе используют возможности компьютерного моделирования хирургических доступов, эндоваскулярных вмешательств и последующих реконструктивных и стабилизирующих операций и опираются на достижения и уникальные возможности смежных специальностей: нейроанестезиологии, радиохирургии и радиотерапии, информационных и аддитивных технологий. Применение оригинальных авторских технологий, основанных на использовании возможностей операционной микроскопии и эндоскопии, применении микрохирургического инструментария, в том числе оригинального, навигационных систем, ультразвуковой локации, флуоресцентной диагностики, нейрофизиологического контроля и персонализированных имплантов, позволило значительно повысить эффективность нейрохирургических вмешательств у взрослых и детей и внедрить оригинальные хирургические методики при патологических процессах основания черепа, которые еще 10-15 лет назад считались неоперабельными, таким пациентам проводились исключительно паллиативные операции.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОДЕЛИ ГЛИАЛЬНОГО РУБЦА СПИННОГО МОЗГА У КРЫС

Чернов А.С., Минаков А.Н, Казаков В.А., Паликов В.А., Телегин Г.Б.

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
РАН (Филиал), Пущино

Морфологическое и функциональное восстановление спинного мозга при патологиях, сопряжённых со структурными повреждениями глиальных тканей, является одной из актуальных и социально значимых задач современной регенеративной медицины. Основным фактором, препятствующим аксональной регенерации проводящих путей спинного мозга – глиальный рубец, развивающийся на месте травмы, а также составляющий основу стенок кист при сирингомиелии.

Последние исследования с использованием аддитивных и клеточных технологий доказывают, что восстановительные процессы в тканях спинного мозга принципиально возможны. Однако для создания благоприятных условий аксональной регенерации в имплантационных методиках требуется максимально чистое иссечение структурного дефекта спинного мозга. Отсутствие адекватных методов иссечения глиальных тканей обуславливает их массивное разрастание с образованием обильного клеточного детрита, что провоцирует высвобождение медиаторов воспаления и, как следствие, развитие воспалительной реакции, лишаящей обнадёживающие в эксперименте технологии клинических перспектив. Целью работы было валидировать технологию иссечения глиальных тканей спинного мозга.

Клинический и гистологический анализ различных хирургических тактик гемисекции спинного мозга на предмет оценки возможности использования создаваемого структурного дефекта в качестве имплантационного ложа.

В сравнительном аспекте изучены и апробированы различные хирургические подходы, в т.ч. с привлечением криогенных и лазерных технологий, для получения качественного иссечения глиальных тканей спинного мозга у крыс; разработаны адекватное анестезиологическое пособие и комплекс постоперационного обеспечения для вмешательств данного типа.

Выводы практическая значимость работы состоит в моделировании метода, способного лечь в основу тактики хирургического лечения структурных патологий проводящих путей спинного мозга.

**ПРОФИЛИРОВАНИЕ В-ЛИМФОЦИТОВ ПАЦИЕНТОВ С
АУТОИММУННОЙ ПУЗЫРЧАТКОЙ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ПОДХОД
К РАЗРАБОТКЕ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ
ИММУНОЛИГАНДАМИ НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ
ДОМЕНОВ ДЕСМОГЛЕИНА**

**Абрикосова В.А., Овчинникова Л.А., Ларина Е.Н., Баранова М.Н.,
Ломакин Я.А., Мокрушина Ю.А., Балабашин Д.С., Бобик Т.В.,
Калиберда Е.Н., Терехов С.С.**

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, Москва

Пузырчатка – тяжёлое аутоиммунное заболевание, которое проявляется формированием внутриэпидермальных пузырей в результате акантолиза – разрушения межклеточных мостиков. Для ослабления симптомов заболевания в настоящее время применяется главным образом системная глюкокортикостероидная терапия (ГКС), имеющая ряд серьёзных побочных эффектов. На сегодняшний день единственным рекомендованным к использованию в клинической практике подобным препаратом является ритуксимаб, содержащий моноклональные антитела к CD20 антигену В-лимфоцитов. Однако его применение приводит к подавлению не только патологических, но и нормальных В-лимфоцитов, и, таким образом, развитию системного иммунодефицита. Решением данной проблемы может стать подбор иммунолигандов, специфичных к популяции аутореактивных В-клеток. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что у пациентов с диагностированной пузырчаткой уровни антител к различным фрагментам десмоглеина неодинаковы. В данной работе были установлены различия в профилях антительного ответа по отношению к доменам десмоглеина и к полноразмерному белку, а также показана положительная корреляция между уровнем антител и количеством аутореактивных В-клеток к фрагментам десмоглеина. Определено, что доля аутореактивных В-клеток у пациентов с диагностированной пузырчаткой составляет 0.09–0.16%. Кроме того, полученные результаты показали, что подход двойного позитивного окрашивания клеток может быть успешно использован для дифференцирования антигенспецифичности В-клеток при аутоиммунных заболеваниях.

КАЧЕСТВЕННО НОВЫЕ ДАННЫЕ ОБ ОСОБЕННОСТЯХ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ УБИКВИТИН-ПРОТЕАСОМНОЙ СИСТЕМЫ

Кудряева А.А., Белогуров А.А.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

Убиквитин-протеасомная система – основная система деградации белков в ядрах и цитоплазме эукариотических клеток, она также вовлечена в патогенез многих нейродегенеративных заболеваний, таких как болезни Альцгеймера и рассеянного склероза (РС), амиотропный латеральный склероз, прионные болезни и ряд других. Считается также, что протеолитическая деградация является одной из ключевых стадий в разрушении миелина, которое протекает при рассеянном склерозе. Наиболее вероятным является то, что именно протеолитическое расщепление белков является причиной появления аутоантигенов.

Среди главных аутоантигенов при РС выделяют несколько белков миелиновой оболочки, в том числе основной белок миелина (МВР), в значительных количествах присутствующий в мембране олигодендроцитов. Нами было установлено, что МВР принадлежит к крайне малочисленной группе белков, способных подвергаться протеолизу 26S протеасомой в отсутствие молекул убиквитина. В молекулярном механизме гидролиза МВР протеасомой задействован новый класс убиквитиннезависимых дегронов и их заряд-опосредованное связывание с регуляторной субъединицей REG α . Интересно, что природные полиамины, включая спермин, имеют функцию модуляторов протеасомной активности. Нами было установлено, что при развитии экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (ЕАЕ) – животной модели рассеянного склероза – в головном мозге иммунизированных животных конститутивная протеасома в значительной степени замещается иммунопротеасомой, при этом иммуносубъединица $\beta 1i$ локализуется преимущественно в олигодендроцитах. Показано, что повышенное содержание иммунопротеасомы в головном мозге мышей с ЕАЕ приводит к образованию повышенного количества ряда патогенных пептидов МВР, презентация которых провоцирует атаку цитотоксических лимфоцитов на олигодендроциты. Специфический ингибитор иммуносубъединицы $\beta 1i$ эффективно подавлял развитие ЕАЕ у экспериментальных животных.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПЛАТФОРМЫ, ОСНОВАННЫЕ НА ПРИНЦИПАХ КОМПАРТМЕНТАЛИЗАЦИИ И УЛЬТРАВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СКРИНИНГА – ШАГ К НОВОМУ УРОВНЮ ПОНИМАНИЯ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЖИВЫХ СИСТЕМ И СООБЩЕСТВ ОРГАНИЗМОВ

Терехов С.С., Смирнов И.В., Габибов А.Г.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, Москва

Мир живых систем наполнен множеством молекулярных взаимодействий и невероятно сложен для детального анализа. Исследования взаимодействий организмов с использованием классических методов направлены на изучение неких эффектов, усредненных в популяции, что дает весьма искаженную картину, полную артефактов. Современные методы, основанные на принципах компарментализации и детальном высокопроизводительном анализе индивидуальных биологических объектов, лишены этих недостатков и позволяют осуществлять глубокое фенотипическое и генотипическое профилирование биоразнообразия. Применяя принципы компарментализации к разнообразным биологическим объектам, мы показали, что они не только позволяют наиболее эффективно сохранить биоразнообразие, но также являются незаменимым инструментом для поиска уникальных представителей с заданной функциональностью. Ввиду своей универсальности, данная концепция была эффективно использована для глубокого функционального профилирование природного и синтетического биоразнообразия.

Инкапсулируя индивидуальные клетки в капли эмульсии, нами была проведена направленная эволюция ферментов, поиск антибиотиков и пробиотиков, персонифицированный скрининг антибиотикорезистентности, а также реконструкция природного репертуара антител человека. Полученные результаты свидетельствуют о том, что технологические платформы, основанные на принципах компарментализации и ультравысокопроизводительного скрининга, позволяют перейти на новый уровень понимания функционирования живых систем и сообществ организмов.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННЫХ ФАКТОРОВ НА ПРОСТРАНСТВЕННУЮ ТОЧНОСТЬ МИКРОХИРУРГИЧЕСКИХ ДЕЙСТВИЙ

**Быканов А.Е., Пицхелаури Д.И., Грачев Н.С.,
Семёнов Д.Э., Матуев К.Б.**

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр
нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко», Москва.

Определено влияние таких экзогенных факторов как поза хирурга, длина хирургического инструмента, усталость после ночного дежурства, физические упражнения и употребление кофеина на пространственную точность микрохирургического действия. Исследование выполнено при участии 11 ординаторов-нейрохирургов первого года обучения, соответствующих критериям включения. Для оценки и симуляции микрохирургического действия использовалось разработанное авторами устройство для тестирования и операционный микроскоп Carl Zeiss. Результаты экспериментов сравнивались между собой с помощью однофакторного анализа (критерий Вилкоксона) и многофакторного анализа, который проводился с помощью построения модели смешанных эффектов (mixed models). Различия признавались статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистически значимо на пространственную точность двигательного хирургического действия (однофакторный анализ) влияли опора рук при положении сидя, употребление кофеина и длина микрохирургического инструмента. Пространственная точность не коррелировала с вариантами положения стоя, позой хирурга стоя/сидя, усталостью после ночного дежурства и физической нагрузкой перед выполнением двигательного действия. Таким образом, в результате проведенной работы сделан вывод: с целью повышения пространственной точности микрохирургам необходимо использовать при работе опору для рук и более короткие инструменты, а также избегать употребления кофеина перед операцией в больших дозах.

МОДЕЛИРОВАНИЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА НА МЫШАХ ЛИНИИ C57BL/6 И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТФОРМИНА И АКАРБОЗЫ

Бороздина Н.А.

ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт,
Пущино.

Целью исследования являлось создать наиболее релевантную, этиологически правдоподобную модель сахарного диабета 2 типа на мышах C57BL/6, а также оценить терапевтический эффект метформина как стандартного препарата, назначаемого при сахарном диабете 2 типа.

Проведено исследование, где мыши линии C57Bl/6 содержались на высокожировой диете (ВЖД) в течение 21 недели. У животных на ВЖД и с применением стандартной терапии метформином и акарбозой регистрировались физиологические параметры (масса тела, потребление корма и воды), проводились глюкозотолерантный и инсулинорезистентный тесты, функциональные тесты и тесты на развитие полинейропатий. В конце прижизненной фазы проводился биохимический анализ сыворотки и измерение уровня цитокинов в сыворотке крови, гистологический анализ.

Наблюдалось значительное увеличение массы тела и выраженный ответ на введение глюкозы в глюкозотолерантном тесте. У мышей на ВЖД выявлено значительное увеличение массы висцеральной жировой ткани, увеличение диаметра адипоцитов и количества липидных включений в печени. У животных на 18 неделю ВЖД наблюдалось увеличение уровня TNF- α . В функциональных тестах у мышей на ВЖД наблюдалось значительное снижение исследовательской активности и повышенная чувствительность к механическим и температурным стимулам. Определено, что терапия метформином в дозе 250 мг/кг, аналогично клиническому применению, является эффективной на фоне ВЖД, так как наблюдается снижение массы тела, массы висцерального жира и TNF- α у животных. Однако был замечен токсический эффект метформина, так как его применение у мышей линии C57Bl/6 привело к резкому снижению массы тела и гибели двух животных, повышению уровня IL-1.

У мышей линии C57BL/6 воссоздается метаболический синдром по типу сахарного диабета 2 типа, с возможностью изучения на этой модели не только гипогликемических свойств препаратов, но и эффективности в предотвращении развития осложнений, таких как аллодинии.

ПРИМЕНЕНИЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ФАГОВОГО ВЕКТОРА fADL-1E ДЛЯ ПОИСКА И ОТБОРА АНТИГЕНОВ МНС II КЛАССА И В-КЛЕТОК

Ишина И.А., Захарова М.Ю., Мамедов А.Э.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва.

Определение пептидных лигандов, способных селективно связываться с различными рецепторами, является важной задачей для прояснения специфичности клеточных рецепторов и разработки методов терапии нового поколения. Структура клеточного рецептора, а также его микроокружение, затрудняют возможность идентификации, связывающегося с ним лиганда, особенно в условиях *in vitro*. Разработка эффективной платформы для определения антигенов главного комплекса гистосовместимости второго класса (МНС II), а также В-клеток поможет прояснить этиологию многих заболеваний. Ранее полученная платформа для определения специфичности рецепторов эукариотических клеток позволила отобрать до 97% антиген-специфичных В-клеток, с использованием системы биоконъюгатов бактериофагов, полученных на основе фагемидного вектора и метода проточной цитофлуорометрии. Система для определения антигенов была значительно улучшена благодаря созданию конструкций бактериофагов на основе фагового вектора fADL-1e, не требующего гиперфага-помощника для экспрессии, что повысило специфичность и упростило экспериментальный процесс. Улучшенная платформа была использована для поиска антигенов МНС II класса и трансгенных антиген-специфичных В-клетках, экспрессирующих рекомбинантный лимфоидный В-клеточный рецептор. Использование бактериофагов, экспрессированных при помощи фагового вектора fADL-1e, показало наибольшую эффективность отбора антигена МНС II класса человека (HLA-DR1) по сравнению с фагемидным вектором. Использование системы на основе фагового вектора fADL-1e также показало большую эффективность отбора антиген-специфичных В-клеток, по сравнению с фагемидным вектором. Бактериофаги, полученные на основе фагового вектора fADL-1e позволили отобрать до 98,5% В-клеток, с уровнем ложноположительного сигнала 0,2%. Полученные результаты показывают возможность применения системы на основе фагового вектора fADL-1e для поиска и отбора антигенов МНС II класса и В-клеток.

ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ МОРФОЛОГИИ ГЛИАЛЬНЫХ РУБЦОВ СПИННОГО МОЗГА САМЦОВ КРЫС НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

Казаков В.А., Минаков А.Н., Чернов А.С., Телегин Г.Б.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН (Филиал), Пущино.

В отношении возможности функционального восстановления спинальных пациентов критическим фактором является интенсивность воспалительных процессов в области травмы спинного мозга (ТСМ). Известно, что прямые медиаторы местного воспаления - цитокины, могут оказывать как стимулирующее, так и супрессивное влияние на восстановление поврежденного спинного мозга.

Нами разработан и верифицирован оригинальный метод хирургического моделирования посттравматического глиального рубца спинного мозга у крыс. Модель может быть использована в качестве биологической платформы для тестирования методов стимулирования регенеративных процессов центральной нервной системы с помощью блокаторов цитокинов. В качестве модельных животных были использованы крысы линии Dark agouti SPF-категории (содержащиеся в стандартных условиях ПЛЖ, УНУ «Био-модель» ИБХ РАН), характеризующиеся высокой предрасположенностью к развитию аутоиммунных заболеваний, что обусловлено сдвигом цитокинового баланса на фоне воспалительных процессов. Оценку степени вовлеченности спинного мозга (СМ) в моделируемый процесс оценивали не только косвенно (бальная шкала ВВВ), но и посредством морфометрического анализа экспериментально получаемого структурного дефекта. Одновременно - в ликворе, плазме крови и глиальных тканях спинного мозга в области травмы и в смежном с ней интактном участке, исследовали уровень цитокинов, используя кит Bio-Plex Pro Rat Cytokine 24-plex Assay (Bio-Rad). Сравнительный анализ показал, что морфометрические характеристики моделируемого на спинном мозге крыс глиального рубца коррелируют с уровнем воспалительных цитокинов в исследуемых биологических материалах. Проведённые исследования создают задел для разработки персонафицированных стратегий применения коктейлей противовоспалительных агентов, стимулирующих функциональное восстановление при ТСМ.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭНДОСКОПИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЙ ПРИ АРАХНОИДАЛЬНЫХ КИСТАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ У ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ

Шевченко К.В.

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр
нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко», Москва.

Проведена оценка эффективности эндоскопических операции при арахноидальных кистах (АК) головного мозга различной локализации у взрослых пациентов. Проанализированы результаты лечения 31 взрослых пациента с АК. У всех пациентов были выполнены эндоскопические операции различного характера и степени сложности в зависимости от локализации АК. Катамнез варьировал от 2 до 18 месяцев. В результате летальных исходов, интраоперационных и послеоперационных осложнений не отмечалось. Во всех случаях дооперационная симптоматика регрессировала полностью. Обструкции соустья между полостью кисты и ликворопроводящими пространствами не отмечено. Таким образом, эндоскопические операции могут рассматриваться и использоваться в качестве основного метода лечения при первичном обращении пациента с АК головного мозга, проявляющимися неврологическими симптомами.

DTI-MRI В ИССЛЕДОВАНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КРИОТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА У КРЫС

Родионов М.В., Чернов А.С., Телегин Г.Б.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН (Филиал), Пущино.

Травма спинного мозга (ТСМ) представляет собой актуальную проблему современной медицины человека. Наиболее перспективными из таких методов являются модификации DWI (diffusion weighted imaging), основанные на оценке диффузии молекул, движимых магнитным полем. DTI (diffusion tensor imaging) позволяет оценить степень сохранности и даёт возможность реконструкции проводящих нервных путей спинного мозга.

Исследование проводилось на 7 крысах линии DA, самцах возраста 4 месяцев с массой тела 280-320 грамм. МРТ в режиме DTI выполняли в дни 0 (до травмы и непосредственно после травмы), 1, 7, 14, 21, 30 и 60. Для количественной оценки вычислялся показатель FA (фракционная анизотропия).

В типичных случаях развития патологии (4 из 7) отмечалось первоначальное нарастание FA справа краниальнее уровня повреждения, резкое снижение его на уровне травмы и умеренное снижение каудальнее. Со временем FA всей поврежденной стороны прогрессивно снижался, отражая необратимые изменения аксональных трактов. В атипичных случаях наблюдалось восстановление FA каудальнее уровня травмы (2 из 7), что коррелировало с последующей регрессией неврологической симптоматики, а в 1 случае – двустороннее повреждение проводящей системы спинного мозга.

Таким образом, метод MRI-DTI позволяет объективно зафиксировать повреждение спинного мозга *in vivo* и динамически, неинвазивно оценить функциональный статус проводимости спинальных трактов; его можно использовать для ранней отбраковки животных при неспецифическом билатеральном повреждении спинного мозга или частичного повреждения с последующим спонтанным восстановлением. Модель унилатеральной правосторонней прецизионной криоаппликации спинного мозга обладает достаточной степенью прецизионности, ограничиваясь повреждением только правых проводящих трактов с сохранностью левых, а также уровнем повреждения, не выходящим за пределы позвонка Th₁₃.

НОВЫЕ ЛИГАНДЫ НИКОТИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ СНИЖАЮТ РИСК ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА

Северюхина М.С.^{1,2}, Шайхутдинова Э.Р.²

¹ФГБОУ ВО Пущинский государственный естественно-научный институт,
Пущино

²ФГБУН Институт биоорганической химии им. Шемякина и Овчинникова
РАН (Филиал), Пущино.

Имеющиеся на сегодняшний день данные указывают на то, что активация никотиновых ацетилхолиновых рецепторов (nAChR) может уменьшить повреждение сердца в результате ишемии и последующей реперфузии. Использование агонистов nAChR на различных животных моделях приводит к уменьшению реперфузионного повреждения. Целью работы было на модели острого инфаркта миокарда (ОИМ) у крыс SD изучить эффективность частичных агонистов nAChR – Варениклина и Цитизина.

В эксперименте использовали самцов крыс SD (18-20 недель), с моделью ОИМ (30-мин окклюзия левой коронарной артерии и 90-мин реперфузия под уретановым наркозом). Введение тестируемых веществ или физраствора осуществляли за 5 мин до окклюзии. Кровь для биохимического анализа (0,5 мл) собирали до момента окклюзии, а также в конце реперфузионного периода. Сердце делили на 5 срезов и подвергали методике «двойного окрашивания», после чего сканировали и подсчитывали зону инфаркта, зону риска и площадь среза левого желудочка.

В ходе работы не было выявлено случаев гибели животных. Определение анатомической зоны риска не выявило отличий в экспериментальных группах, тогда как размер зоны инфаркта различался в контроле и группах с введением агонистов. Так, введение агонистов nAChR Варениклина и Цитизина за 5 мин до окклюзии приводило к статистически достоверному снижению размера инфаркта до $15,7 \pm 8,5$ % и $19,6 \pm 6,2$ % соответственно (относительно контроля $32,0 \pm 7,7$ %).

Биохимический анализ крови показал, что в группе «Контроль» достоверно увеличивались концентрации мочевины, АСТ, креатинина, а общий белок снижался относительно исходных значений. В экспериментальных группах, помимо этих изменений, уменьшалась концентрации холестерина и АЛТ. Тестируемые соединения значительно уменьшают повреждение миокарда, при этом варениклин проявляет более высокую защиту, что открывает новый путь использования этих веществ в качестве кардиозащитных средств.

МОДЕЛИРОВАНИЕ УРОЛИТИАЗА С ПРИМЕНЕНИЕМ 0,5% ЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ НА КРЫСАХ

Бервинова А.В.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова Российской академии наук (Филиал), Пушкино
ФГБОУ высшего образования Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино.

Целью исследования являлась разработка биомодели уролитиаза в стандартных условиях, которая будет безопасна для тест-систем и иметь более длительный эффект. В качестве тест-системы были использованы самцы крыс линии SD (10-12 недель). Животные были случайно распределены на 3 группы: 1 –получали стандартную фильтрованную воду; 2 – получали 0,5% раствор этиленгликоля (ЭГ 0,5%); 3 группа – получали 1% раствор этиленгликоля (ЭГ 1%).

На протяжении 9 недель у животных получавших 0,5% ЭГ диурез был снижен по сравнению с контрольной группой в среднем на 34,3%, у группы животных получавших 1% ЭГ диурез был снижен на 36%. На 3-ю неделю исследования у животных, подвергавшихся моделированию рН мочи был достоверно снижен по сравнению с контролем. По результатам гематологического анализа в группе №3 было обнаружено достоверное снижение гематокрита. Повышенный уровень корпускулярного гемоглобина наблюдался у всех животных получавших ЭГ. По результатам биохимии крови в группе №3, в отличие от группы №2, наблюдалась комплексная картина почечной недостаточности, характеризующаяся увеличением уровней мочевины, креатинина, холестерина, кальция и неорганических фосфатов, АлАТ и триглицеридов относительно контрольной группы.

Исходя из выше сказанного, можно сделать вывод, что модель с применением 0,5% этиленгликоля менее токсичная для тест-систем, так как не было обнаружено повышения АлАТ, креатинина, холестерина и триглицеридов в крови, как это наблюдалось в модели с 1% этиленгликолем на 3-ю неделю эксперимента. На 9-й недели у группы №2 отмечалось достоверное повышение мочевины, что в свою очередь является маркером снижения клубочковой фильтрации. Полученные результаты после применения 0,5% этиленгликоля больше свидетельствуют о хроническом течении мочекаменной болезни, в то время как результаты после применения 1% этиленгликоля свидетельствуют об остром течении заболевания.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ОБРАБОТКИ МРТ ПАЦИЕНТОВ С НЕВРАЛГИЕЙ ТРОЙНИЧНОГО НЕРВА

Пошатаев В.К.

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко», Москва.

Проведен сравнительный анализ результатов, полученный при обследовании 30 пациентов с невралгией тройничного нерва (НТН).

Данные «стандартного» исследования МРТ, полученные от 30 пациентов с нейроваскулярным конфликтом, были сравнены с результатами их обследования в режиме Fusion.

Мы разработали два способа обработки МРТ пациентов с целью уточнения типа компримирующего сосуда и трехмерной реконструкции «модели» пациента («Fusion») для планирования проведения хирургического вмешательства. При сопоставлении данных МРТ в режиме FIESTA и совмещенных режимов (3D T2 + 3D-TOF + T1 FSpGr, “Fusion”) получены следующие результаты: подтвердить наличие НВК только в режиме FIESTA удалось в 93% случаев, в то время как при Fusion данная вероятность оказалась 97%. Определение типов компрессии было легче определить в режиме совмещения, т. к. МР-ангиография позволяла точно судить о наличии артерии в 90% случаев. Венозную компрессию, составившую 10% исследований, невозможно было определить в режиме FIESTA в 10 случаях (т. о., эффективность диагностики типа НВК для данного режима составила 70%). Определение типа НВК в режиме Fusion оказалось возможным в 97% случаев. Наиболее частым типом НВК по локализации оказалась зона слияния корешка ТН и ствола мозга (TREZ), определенная по данным FIESTA в 90%, по данным Fusion эти данные были уточнены также наличием компрессии в цистернальной части корешка (в общей сложности, 97%). Совпадение данных FIESTA и интраоперационной картины зафиксировано в 84% случаев, для режима Fusion точность составила 97%. Представленный режим совмещения нескольких последовательностей имеет несколько преимуществ перед использованием только режима FIESTA. К ним относятся возможность быстро сориентироваться в типе компрессии, оценить ход сосуда, оценить наличие НВК вдоль цистернальной части нерва, а также уточнить количество компримирующих сосудов благодаря разнице показателей кровотока, оцененных при помощи МР-ангиографии.

ИММУНОГЕННОСТЬ ЛИНЕЙНЫХ И КОНФОРМАЦИОННЫХ ЭПИТОПОВ RBD-ФРАГМЕНТА S-БЕЛКА ВИРУСА SARS-COV-2

Костин Н.Н., Симонова М.А., Бобик Т.В., Скрыбин Г.А., Цабай П.Н.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва.

Разработан тест для детекции нейтрализующих антител, способных ингибировать взаимодействие рецепторсвязывающего домена S-белка SARS-Cov2 (RBD) и его рецептора ACE2. С применением данного теста проведена оценка гуморального ответа у людей, перенесших COVID-19 в легкой и тяжелой форме, а также у людей, вакцинированных различными препаратами: векторными вакцинами «Спутник V» (Россия) и «Convidicea» (Китай) и субъединичной вакциной «ЭпиВакКорона» (Россия). Показано, что в сыворотках крови переболевших людей и людей, вакцинированных препаратами векторных вакцин, уровень нейтрализующих антител различался слабо ($p=0,003$ в дисперсионном анализе и $p>0,05$ в парных

тестах Манна-Уитни). В сыворотках крови людей, вакцинированных препаратом «ЭпиВакКорона», нейтрализующих антител не обнаружено. Уровни IgG к RBD в сыворотках крови переболевших и вакцинированных векторными вакцинами людей существенно не различались ($p=0,329$ в дисперсионном анализе и $p>0,05$ в парных тестах Манна–Уитни). В сыворотках крови людей, вакцинированных препаратом «ЭпиВакКорона», IgG к RBD не обнаружено. Показана обратная корреляция между IC50 (показатель нейтрализующей активности сыворотки) и уровнем IgG к RBD: $p<0,001$ в тесте Пирсона (коэффициент корреляции составил -0.48 , 95% доверительный интервал: $-0.59 - -0.35$). В целом, можно заключить, что уровни IgG и нейтрализующих антител к RBD у людей, вакцинированных векторными препаратами, и у переболевших COVID-19 людей существенно не отличаются.

РАЗРАБОТКА ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДРОЖЖЕВОЙ СИСТЕМЫ ЭКСПРЕССИИ ЛАНТИБИОТИКОВ

Пипия С.О., Мокрушина Ю.А., Терехов С.С., Смирнов И.В.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, Москва.

Ежегодно растет уровень новых случаев инфекций с множественной лекарственной устойчивостью. Таким образом, открытие новых антибиотиков становится первоочередной задачей биомедицины. Лантибиотики представляют собой рибосомально синтезированные и посттрансляционно модифицированные пептиды, которые несут неканонические тиоэфирные аминокислоты лантионин и метиллантионин. Лантибиотики опосредуют свою антибактериальную активность, блокируя синтез клеточной стенки или формируя поры в бактериальной мембране. Однако их клиническое применение ограничено из-за низкой стабильности и растворимости, недостаточного уровня продукции и узких спектров активности. Тем не менее, генетически закодированная архитектура лантибиотиков позволяет создавать широкое разнообразие пептидов, которые можно модифицировать с помощью механизма биосинтеза лантибиотиков, для получения более совершенного противомикробного препарата. Данная работа посвящена разработке гетерологической системы экспрессии лантибиотиков. Биосинтетический кластер, состоящий из последовательности пре-пептида лантибиотика, метилтрансферазы и лантибиотической синтетазы (LanKC), был перенесен в метилотрофные дрожжи *Pichia pastoris*. Для оценки субстратной специфичности фермента LanKC коровая последовательность лантипептида была заменена на панель природных лантибиотиков, имеющих различные структуры. По наличию антимикробной активности в очищенных препаратах рекомбинантных лантибиотиков были сделаны выводы о внесении модификаций в их аминокислотные последовательности и толерантности фермента LanKC относительно коровой части модифицируемого пептида. Рекомбинантные лантибиотики проявляли выраженную антибактериальную активность в отношении грамположительных бактерий, в том числе патогенного штамма *S. aureus* MRSA. Разработанная дрожжевая система получения лантибиотиков в сочетании с технологиями редактирования генов и высокопроизводительными методами скрининга является перспективным инструментом для поиска противомикробных агентов нового поколения.

ВЛИЯНИЕ СИСТЕМНОЙ ТЕРАПИИ НА ВЫРАЖЕННОСТЬ НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО ДЕФИЦИТА ПРИ НЕЙРОФИБРОМАТОЗЕ II ТИПА

Макашова Е.С., Саватеев А.Н., Голанов А.В., Саушев Д.А.

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко», Москва.

Проведено исследование эффективности бевацизумаба (ингибитора сосудистого эндотелиального фактора роста (Vascular endothelial growth factor, VEGF)) для контроля роста вестибулярных шванном. В период с августа 2020 по февраль 2022 года в исследование были включены 19 пациентов с нейрофиброматозом II типа и 1 пациент с шванноматозом. В большинстве случаев заболевание развивалось в результате *denovo* герминальной мутации и только у одной пациентки был выявлен мозаичный вариант.

Показания к назначению бевацизумаба определялись Лондонским протоколом лечения пациентов с НФ II. Критерием эффективности было стабилизация целевой опухоли или уменьшение ее объема по данным магнитно-резонансной томографии на 20 и более процентов. У всех пациентов оценивались изменения в неврологическом статусе и степени тугоухости по данным аудиометрии, а также общая динамика роста других интра- и экс-тракраниальных опухолей, доступных для оценки по данным МРТ головного и спинного мозга. У всех пациентов получивших хотя бы 6 введений бевацизумаба отмечалась стабилизация роста экстра- и интракраниальных шванном, и интрамедуллярных шванном; однако в 4 случаях наблюдался продолженный рост интракраниальных менингиом, что потребовало проведения стереотаксического лучевого лечения. Уменьшения объема целевой опухоли на 20% и более удалось достичь у 6 (40%) пациентов. Во всех случаях наблюдалось улучшение неврологического статуса по шкале NIS. Таким образом, бевацизумаб может применяться в качестве дополнительной терапии у пациентов с нейрофиброматозом II типа и шванноматозом, дополняя другие методы лечения.

НОВЫЙ ПОДХОД К РАЗРУШЕНИЮ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК В МИКРООКРУЖЕНИИ ОПУХОЛИ

Волков Д.В., Степанов А.В.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва.

Одним из перспективных направлений в терапии злокачественных новообразований является адоптивная иммунная терапия Т-клетками, модифицированными химерными антигенными рецепторами (T-cells modified by chimeric antigen receptors, CART). Ключевым препятствием в CART терапии солидных опухолей является опухолевое микроокружение (tumor microenvironment, TME). Наряду с «ядром» из опухолевых клеток в TME имеется несколько слоев, включающих клетки иммунитета хозяина. Нейтрофилы тоже являются составной частью TME и вовлечены в развитие опухоли. В процессе нетоза – регулируемой формы гибели – они выделяют внеклеточные ловушки (NETs), содержащие наряду с нитями ДНК и гистонами разные гранулы и растворенные ферменты. Недавние работы показали, как NETs могут стимулировать развитие рака – разрывом межклеточных связей и изменением фенотипа клеток опухоли, захватом циркулирующих опухолевых клеток и препятствуя действию цитотоксических клеток иммунитета. Один из перспективных способов разрушения NETs – введение дезоксирибонуклеазы (ДНКазы) I, которая значительно уменьшает их количество и способность опухоли к метастазированию. Цель нашего исследования – комбинация адоптивной иммунной терапии CART и ДНКазы I-ориентированного подхода для разрушения пространственной преграды из NETs в контексте TME.

ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ НА МОДЕЛИ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА И НА МОДЕЛИ ДИФFUЗНОГО АЛЬВЕОЛЯРНОГО ПОРАЖЕНИЯ ЛЕГКИХ У ЛАБОРАТОРНЫХ ГРЫЗУНОВ

Паликов В.А., Минаков А.Н., Чернов А.С., Телегин Г.Б.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (Филиал), Пущино.

Цель исследования: подбор поведенческих тестов после формирования глиального рубца при травме спинного мозга, а также оценка функционального состояния дыхательной системы при моделировании диффузного альвеолярного поражения легких *in vivo*.

Повреждение спинного мозга путем криовоздействия сопровождалось моноплегией задней конечности. Регистрация спонтанной локомоторной активности при помощи оборудования TSE Multi Conditioning System, оценка силы хватания на оборудовании Grip Strength Meter Columbus Instruments, измерение максимально возможной скорости крыс при помощи Animal Treadmill "Exer 3/6" (Columbus Instruments, USA).

Установлено, что при визуальном отсутствии подвижности суставов задней конечности у животных значительно снижались следующие показатели: вертикальная активность на 84%, время подвижности на 40% и пройденное расстояние на 58% относительно здоровых животных. Сила хватания поврежденной конечности и максимальная скорость животных с моноплегией задней конечности были снижены на 87% и 63% соответственно относительно здоровых животных.

Функциональные изменения дыхательной системы при моделировании диффузного альвеолярного повреждения были изучены при помощи оборудования PowerLab 8/35 с блоком Spirometer AdInstruments. Показано значительное увеличение количества дыхательных движений в минуту на 72%, уменьшение дыхательного объема на 48% и скорости потока выдоха на 56% на 8 день исследования по сравнению со здоровыми животными.

Данное исследование, направленное на изучение функциональных изменений у животных после травмы спинного мозга и диффузного альвеолярного поражения легких, позволило подобрать методику и режим тестирования для отслеживания состояния животных при эксперименте.

ИЗУЧЕНИЕ ПАТОГЕНЕЗА АУТОИММУННОЙ ДЕГРАДАЦИИ НА ЖИВОТНОЙ МОДЕЛИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

Белогуров А.А., Мамедов А.Э., Курбацкая И.Н., Смирнов И.В.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва.

Предрасположенность к рассеянному склерозу (РС), хроническому аутоиммунному заболеванию центральной нервной системы, обусловлена различными факторами. Генетическая составляющая считается одним из важнейших факторов. Гены HLA класса II вносят наибольший вклад в развитие рассеянного склероза. Группа аллелей HLA-DRB1*15 считается одним из основных генетических факторов риска, предрасполагающих к РС. Показано, что группа аллелей HLA-DRB1*01 обладает протективным действием по отношению к этому заболеванию в русской популяции. В этой работе мы сравнили связывание энцефалитогенного фрагмента основного белка миелина (МВР) с двумя комплексами HLA-DR, которые обеспечивают защиту и предрасположенность к РС: HLA-DR1 (HLA-DRB1*0101) и HLA-DR15 (HLA-DRB1*1501) соответственно. Мы обнаружили, что миелиновый пептид МВР88-100 связывается с HLA-DR1 со скоростью почти на порядок ниже, чем вирусный пептид гемагглютинина (НА), а также по сравнению с МВР85-97 и вирусным рр65 в контексте HLA-DR15. Структура Сконцевой части пептида играет ключевую роль в связывании с HLA-DR1 при том, что N-концевые части пептидов обладают одинаковым средством. IC50 миелинового пептида МВР88-100, конкурирующего с вирусным НА за связывание с HLA-DR1, почти на порядок выше, чем в случае НА, а также по сравнению с МВР85-97 и вирусным рр65 в контексте HLA-DR15. Таким образом, аутоантигенный МВР не способен конкурировать с вирусным пептидом за связывание с протективным HLADR1. Однако данный миелиновый фрагмент более конкурентоспособен, чем вирусный пептид в отношении HLA-DR15.

ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫЙ АЛГОРИТМ ДЛЯ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ДИЗАЙНА МОДЕЛЬНЫХ АНТИТЕЛ И ДРУГИХ ФУНКЦИОНАЛЬНО ВОСТРЕБОВАННЫХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

Мокрушина Ю.А.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва.

Энантоселективность является одной из важных характеристик ферментативных реакций и лиганд-рецепторных взаимодействий. Разные энантиомеры наркотических веществ и фосфорорганических соединений (ФОС) проявляют различную токсичность. В настоящем исследовании предложен новый комбинированный метод QM/MM и моделирование метадинамики с вороночным потенциалом, позволяющий создавать биологические антителы на основе биокатализаторов, направленно увеличивая их реакционную способность, и прогнозировать стереоселективность. Предложенный вычислительный алгоритм открывают перспективы для индивидуального дизайна не только модельных антител, но и других функционально востребованных членов суперсемейства иммуноглобулинов, включая направленную модификацию клеточных рецепторов.

РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ХОДЬБЫ ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ НА ФОНЕ ПРОВЕДЕНИЯ НЕЙРОСТИМУЛЯЦИИ

Декопов А.В.

«Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии
имени академика Н.Н. Бурденко», Москва.

Проведена оценка предварительных результатов динамики ходьбы у больных с рассеянным склерозом (РС) при проведении тестовой нейростимуляции (НС), а также после имплантации постоянных систем НС. 23 случая на фоне тестовой НС, 7 — после имплантации постоянных систем НС. Клинически нарушения ходьбы (НХ) были разделены на 3 группы: 1. — НХ вследствие преобладания атаксических расстройств, 2. — сочетание АР и спастического синдрома, 3 — с преобладанием спастического синдрома. В исследовании участвовали 12 женщин, 11 мужчин, средний возраст пациентов — 45 лет. Длительность заболевания составила от 6 до 33 лет, время между появлением первых двигательных нарушений и НС — от 1 до 33 лет (медиана — 10.5 лет). Локализация имплантируемых электродов проводилась таким образом, чтобы зона парестезий соответствовала области, в которых проявлялось НХ. В послеоперационном периоде проводилась НС с частотами от 20 до 300 Гц. Результаты оценивались по 25-футовой ходьбе, дистанции ходьбы, динамики ходьбы по лестнице и координаторных расстройств. Результаты тестовой НС оценены у 22 пациентов. Положительный эффект тестовой НС отмечен у 12 пациентов (54,54 % случаев), сомнительный — у 7 (31,81%), без динамики — у 3 (13,63%). При этом положительный эффект (n = 12) отмечен у 3 пациентов в первой группе (50%), у 5 — во второй (71,42%) и 4 в третьей (40%). Наиболее эффективными при тестовой НС в первой группе оказались частоты от 30 до 80 Гц, во второй — от 60 до 120 Гц, в третьей — свыше 120 Гц. Отсутствие эффекта от НС на НХ (n = 3) проявлялось вне зависимости от параметров НС.

Эффективность тестовой НС не зависела от длительности РС, давности двигательных расстройств, временного интервала между обострением/декомпенсацией и проведением тестовой НС. Системы постоянной НС имплантированы 7 пациентам (при этом у 6 отмечен положительный эффект от тестовой НС, у 1 сомнительный). Предварительные результаты свидетельствуют о эффективности методики НС в лечении НХ при РС.

ПРИМЕНЕНИЕ НАПРАВЛЕННОЙ НЕЙРОСТИМУЛЯЦИИ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

Гамалея А.А.

«Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко», Москва.

Изучена эффективность и особенности программирования электростимуляции субталамического ядра (DBS STN) с использованием сегментированных электродов для направленной нейростимуляции в сравнении с традиционными электродами при болезни Паркинсона (БП). В исследование включено 40 пациентов с БП, осложненной развитием моторных флуктуаций и лекарственных дискинезий, которым были имплантированы системы для двусторонней DBS STN в 2017-2019 годах. У 20 пациентов были использованы 8-контактные сегментированные электроды (средний возраст $54,9 \pm 9,5$ лет, длительность заболевания $13,2 \pm 4,3$ лет, $3,2 \pm 0,5$ ст. по Хен-Яру). Группу сравнения составили 20 пациентов, которым имплантировались традиционные 4-контактные электроды, обеспечивающие ненаправленную (круговую или омниполярную) нейростимуляцию (средний возраст $57,4 \pm 9,0$ лет, длительность заболевания $11,4 \pm 4,7$ лет, $3,2 \pm 0,5$ ст. по Хен-Яру). Окончательная траектория имплантации электрода, определенная по результатам МЭР и интраоперационной стимуляции, совпала с рассчитанной по данным нейровизуализации центральной траекторией в 67,5% случаев. Для 32,5% электродов проводилась коррекция траектории. В послеоперационном периоде на фоне постоянной DBS STN в обеих группах пациентов отмечалось значимое снижение тяжести двигательных нарушений и увеличение повседневной активности в OFF-периоде, а также улучшение качества жизни по сравнению с дооперационным уровнем без достоверного различия между группами. Согласно полученным результатам в краткосрочном катамнезе, эффективность DBS STN с использованием сегментированных электродов для лечения развернутых стадий болезни Паркинсона сравнима с таковой при традиционной омниполярной нейростимуляции. Вместе с тем, направленная нейростимуляция предоставляет дополнительные возможности программирования, более гибкой модуляции клинических и побочных эффектов и оптимизации результатов DBS STN.

РАЗРАБОТКА НОВОЙ МЕТОДОЛОГИИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ CAR-T КЛЕТОК ДЛЯ ТЕРАПИИ

Украинская В.М.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва.

Развитие CAR-T терапии привело к немедленному успеху в лечении В-клеточных лейкозов и лимфом. Это также открыло возможности для разработки новых методов, направленных на лечение солидных опухолей. Производство функциональных CAR-T клеток требует надежных протоколов для *ex vivo* / *in vitro* экспансии модифицированных Т-клеток. Современные протоколы размножения CAR-T клеток основаны на инкубации с высокими дозами рекомбинантных цитокинов для поддержания пролиферации, неспецифической стимуляции поверхностными антителами для индукции перекрестного связывания TCR или ко-культивирования с антиген-экспрессирующими питающими клеточными линиями. Эти подходы несовершенны, поскольку неспецифическая стимуляция приводит к быстрому разрастанию CAR-отрицательных Тклеток, а удаление питающих клеток из смешанных культур требует дополнительных стадий очистки. Пытаясь разработать улучшенный протокол для CART клеточной экспансии, мы воспользовались преимуществами клеточных мембранных везикул и простыми структурными требованиями взаимодействия CAR с антигеном. Наш подход заключался в создании антигенных микросфер из обычных клеточных линий, стабильно экспрессирующих поверхностно-связанные антигены CAR (антигенные везикулы, AV), и последующее их использование для стимуляции и экспансии CAR-T клеток. Мы разработали быстрый, эффективный и недорогой способ для создания, стабилизации и очистки антигенных везикул. В качестве доказательства концепции мы протестировали специфичность наших везикул на нескольких парах CAR-антиген. Данные, представленные в этой работе, демонстрируют, что наш протокол производства антигенных везикул позволяет вызывать более сильную стимуляцию, пролиферацию и функциональную активность CAR-T клеток, по сравнению с уже существующими протоколами. Мы прогнозируем, что эта новая методология значительно улучшит возможность получения популяций функциональных CAR-T клеток для терапии.

ТАРГЕТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИНСТРУМЕНТ ГЕНОТЕРАПИИ

Ломакин Я.А.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва.

Направленная доставка белковых терапевтических препаратов в клетки и ткани-мишени является фундаментальной задачей современной медицины. Повышение специфичности этого процесса увеличит эффективность разрабатываемых лекарств. Одними из перспективных инструментов доставки терапевтических белковых агентов являются внеклеточные везикулы (ВВ), представляющие собой двухслойные липидные частицы. ВВ секретируются почти всеми типами клеток и обладают важными преимуществами: биосовместимостью, стабильностью и возможностью проникать через гематоэнцефалический барьер. Ранее было показано, что сверхэкспрессия белка G вируса везикулярного стоматита (VSV-G) способствует образованию ВВ клеткой-продуцентом. За счет VSV-G ВВ отпочковываются от клетки-продуцента, этот же гликопротеид обеспечивает их связывание с мембраной клетки-мишени. В представленной работе помимо VSV-G для наиболее эффективной загрузки ВВ использованы самособирающиеся белковые наноконтейнеры, специфически нагруженные белковым препаратом. Нами оптимизирован белковый состав наноконтейнера для уменьшения токсичности ВВ и увеличения их емкости. Показана возможность таргетированной доставки содержимого ВВ к макрофагам и дендритным клеткам. В перспективе подобные таргетные препараты на основе ВВ можно использовать для нужд генотерапии, лечения пациентов с аутоиммунными, вирусными и онкологическими заболеваниями.

РАЗРАБОТКА БИОСЕНСОРА ДЛЯ УЛЬТРАВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СКРИНИНГА ДЛЯ ПОИСКА НОВЫХ АНТИБИОТИКОВ

Баранова М.Н.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, Москва.

В нашей лаборатории был обнаружен штамм *Streptomyces tendae* ВКПМ Ас-1980, продуцирующий более 20 химически родственных липогликопептидов и обладающий активностью в отношении грамположительных бактерий. Основные компоненты антибиотического комплекса были выделены в индивидуальном виде и установлена их структура, которая, как оказалось, обладает крайне высокой структурной новизной. Полногеномное секвенирование штамма-продуцента *Streptomyces tendae* ВКПМ Ас-1980 позволило предложить путем *in silico* анализа основные биосинтетические пути, ведущие к этим оригинальным структурам. Более того, предполагаемый путь биосинтеза новой небелковой аминокислоты 2-амино-4-гидрокси-4-фенилбутановой кислоты, входящей в состав гауземицинов, из фенилаланина был подтвержден экспериментально. Помимо уникальной структуры и необычного пути биосинтеза, изучаемые соединения обладают также и оригинальным механизмом действия. Изучение морфологии клеток и накопления прекурсоров биосинтеза клеточной стенки под действием гауземицинов показало, что их механизм действия в наибольшей степени напоминает мембрано-активные соединения, прежде всего даптомицин. Тем не менее, спектры активности этих соединений сильно отличаются, что говорит об оригинальной молекулярной мишени этих соединений.

ЭПИТОП-СПЕЦИФИЧЕСКИЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ЛАНДШАФТ ГРУДНОГО МОЛОКА ЖЕНЩИН, ПЕРЕНЕСШИХ COVID-19 НА РАЗНЫХ СРОКАХ БЕРЕМЕННОСТИ

Скрябин Г.А.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН, Москва.

Кормление грудных младенцев матерями, инфицированными коронавирусом SARS-CoV-2, стало серьезной проблемой здравоохранения. ВОЗ рекомендует инфицированным женщинам не отказываться от грудного вскармливания, при этом существует риск контактной передачи вируса. Донорское молоко реконвалесцентов может обеспечить как защиту от коронавируса, так и устранить последствия искусственного вскармливания. Поэтому очень важно охарактеризовать эпитоп-специфический иммунологический ландшафт грудного молока женщин, перенесших COVID-19 на разных сроках беременности. Было обнаружено, что грудное молоко женщин – реконвалесцентов COVID-19, содержит sIgA-антитела к SARS-CoV-2: к эпитопам N-белка, к линейным эпитопам областей NTD, RBD, SD1 S-белка и к конформационным эпитопам области RBD S-белка. Наиболее часто молоко содержит sIgA-антитела к эпитопам N-белка SARS-CoV-2. sIgA-антитела к конформационным эпитопам области RBD S-белка сохраняются долгое время и даже выявляются в грудном молоке женщин, перенесших COVID-19 в первом триместре беременности. Эпитопы S-белка вызывают ответ иммуноглобулинов класса sIgA1, эпитопы N-белка вызывают ответ иммуноглобулинов класса sIgA1 и класса sIgA2. Таким образом, донорское молоко женщин – реконвалесцентов COVID-19 может быть потенциальным защитным агентом от коронавируса SARS-CoV-2.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА БЫСТРОЙ КИНЕТИКИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ ГЛАВНОЙ ПРОТЕАЗЫ ВИРУСА SARS-COV-2

Курбацкая И.Н.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва.

С начала 2020 года пандемия, вызванная вирусом SARS- COV-2, приобрела значительные масштабы, в связи с чем, научные разработки, связанные с поиском и дизайном лекарственных средств против данной вирусной инфекции, стали особенно актуальны. Перспективной мишенью для направленного поиска лекарств является главная протеаза вируса Mpro – фермент, играющий ключевую роль в процессинге вирусных белков. На сегодняшний день описано множество ингибиторов для данного фермента. У многих из этих полученных соединений есть ряд недостатков – низкое ингибирующее действие, либо токсичность в экспериментах на клетках животных и человека. Поэтому, на сегодняшний день, научные изыскания по поиску оптимальных ингибиторов для Mpro продолжаются. Важным моментом для дизайна ингибиторов протеаз является четкое понимание всех стадий механизма работы фермента, количество и продолжительность. В настоящей работе исследована активность фермента Mpro в режиме предстационарной кинетики методом остановленного потока. Использование данной технологии позволило нам охарактеризовать механизм связывания модельного субстрата с протеазой Mpro как простой одностадийный: Однако при изучении прямого связывания фермента с ковалентным конкурентным ингибитором PF-00835231 в отсутствие субстрата нами был описан более сложный процесс трехстадийного связывания ингибитора по следующей схеме: Интересно, что при исследовании взаимодействия неактивного мутанта данного фермента с заменой активного цистеина 145 на аланин было также выявлено эффективное связывание с данным ингибитором по тому же механизму с отсутствием третьей стадии ковалентного присоединения ингибитора к цистенину 145. Отсюда можно сделать заключение, что и нековалентные взаимодействия могут также обеспечивать высоко-аффинное связывание ингибиторов в активном центре фермента, что может иметь большое значение для создания новых ингибиторов и получения эффективных лекарств для борьбы с COVID-19.

В ГИППОКАМПЕ 2ХТG-AD МЫШЕЙ, МОДЕЛИРУЮЩИХ БОЛЕЗНЬ АЛЬЦГЕЙМЕРА, СНИЖЕНА ЭКСПРЕССИЯ LYNX1 И LYRD6B И УВЕЛИЧЕНА ЭКСПРЕССИЯ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ TNFA И TNFB

Бычков М.Л., Люкманова Е.Н.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва.

Настоящая работа посвящена исследованию структурных и функциональных свойств трехпетельного белка человека Lynx2, одного из самых малоизученных членов семейства Lyb/uPAR. Известно, что Lynx2 ассоциирован с мембраной с помощью GPI-якоря. Ранее было показано, что Lynx2 специфически взаимодействует с $\alpha 4\beta 2$ -nAChR и участвует в контроле уровня тревожности у млекопитающих. Рекомбинантный аналог водорастворимого (без GPI-якоря) варианта белка человека Lynx2 был получен в клетках *E. coli* в виде цитоплазматических телец. Структуру и динамику Lynx2 изучали методом ЯМР-спектроскопии в водном растворе. Было показано, что Lynx2 образует характерную “трехпетельную” структуру, включающую компактное β -структурное ядро (“голова”), стабилизированное дисульфидными связями, а также три выступающие “петли”. Методом экстракции из тотального гомогената мозга крысы с помощью магнитных частиц, конъюгированных с Lynx2, были определены потенциальные мишени белка. Показана специфическая экстракция $\alpha 4$ -, $\alpha 6$ - и $\beta 2$ -субъединиц nAChR а также $\alpha 5$ - и $\gamma 2$ - (но не $\beta 2$ -) субъединиц GABAa рецептора. Достоверного взаимодействия Lynx2 с $\alpha 1$ -, $\alpha 3$ - и $\alpha 7$ -субъединицами nAChR не наблюдалось. Впервые было показано, что рекомбинантный Lynx2 ингибирует долговременную потенцию (LTP), моделирующую синаптическую пластичность в срезах гиппокампа мыши. Сходство эффектов α -Bgtx (селективный ингибитор $\alpha 7$ -nAChR) и Lynx2 позволило предположить, что механизм Lynx2-опосредованного подавления LTP может быть связан с отрицательной модуляцией $\alpha 7$ -nAChR. Обработка нейронов гиппокампа крысы рекомбинантным препаратом Lynx2 приводила к уменьшению количества дендритных шипиков и подавлению экспрессии мРНК $\alpha 7$ -, $\alpha 4$ - и $\beta 2$ - субъединиц nAChR, синаптофизина и синапсина-1. В совокупности эти данные указывают на возможное негативное влияние Lynx2 на когнитивные процессы.

НОВЫЕ РЕПОРТЕРНЫЕ МЫШИ С ИНДУЦИРОВАННОЙ СВЕРХЭКСПРЕССИЕЙ TNF ЧЕЛОВЕКА

Астраханцева И.В., Круть В.А., Недоспасов С.А.

Научно-технологический университет Сириус, Сочи.

В нашей работе после полногеномного мутагенеза этилнитрозомочевинной мышей линии СЗН в поколении F3 отбирали особей, показавших устойчивость к острой летальной гепатотоксичности, вызванной комбинацией липополисахарида (ЛПС) *E. coli* и Д-галактозамина (Д-гал). Известно, что облигатным медиатором этой патологии является фактор некроза опухоли (TNF). Воздействие Д-галактозамина повышает чувствительность гепатоцитов к действию TNF, что приводит к их некрозу и/или апоптозу. После двойного ЛПС/Д-гал-скрининга поколения F3 было выявлено несколько особей, устойчивых к воздействию ЛПС и Д-гал-гепатотоксичности, которые стали основателями «мутантных» семейств. С помощью аутбридинга на линию мышей C57BL6 с последующим возвратным скрещиванием последовательно были получены поколения F5 и F7. В поколении F5 было выявлено одно семейство мутантных животных, у которого устойчивость к комбинации ЛПС и Д-гал сочеталась с чувствительностью к комбинации TNF и Д-галактозамина, причем этот фенотип проявлял приблизительно менделевское расщепление, соответствующее гипотезе о рецессивной мутации. Этот факт подтверждался чувствительностью гетерозиготных поколений (F4 и F6) к летальной гепатотоксичности. Первичные макрофаги костного мозга, полученные из половины мутантных мышей с таким фенотипом, характеризовались значительно сниженными уровнями индуцированного TNF в ответ на стимуляцию ЛПС *in vitro*. С другой стороны, уровень TNF в сыворотке крови через 1 час после введения мышам нелетальной дозы ЛПС не отличался у мышей мутантного семейства и мышей дикого типа. Эти результаты могут быть объяснены рецессивной мутацией в одном из генов, кодирующих компоненты сигнальной цепочки врожденного иммунитета, затрагивающей TLR4 каскад, включая в себя белки, связанные с переносом ЛПС, адаптерные молекулы, компоненты киназных сигнальных каскадов и транскрипционные факторы, в ферментах, участвующих в регуляции TLR4 каскада, таких как компоненты убиквитинового цикла, либо в регуляторной последовательности генома, контролирующей экспрессию одного из этих генов, включая ген TNF.

БИОМОДЕЛИРОВАНИЕ СОЦИАЛЬНО-ЗНАЧИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ИЗ БИОРЕСУРСНОЙ КОЛЛЕКЦИИ ИБХ РАН

Телегин Г.Б.

ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А.
Овчинникова РАН (Филиал), Пущино.

Разработка и создание новых лекарств и вакцин невозможны без использования лабораторных животных-биомоделей. Получения надежных и воспроизводимых результатов медико-биологических исследований возможно достичь только при условии соблюдения стандартности всех его составляющих, и, в первую очередь, это относится к лабораторным животным, которых используют при проведении исследований и испытаний. Стандартность лабораторных животных достигается путем их разведения и содержания в барьерной системе с применением современных технологий, а также в результате применения единых критериев оценки состояния их здоровья. Для доклинических исследований необходимо использовать только охарактеризованных животных с известными микробиологическим и генетическим статусами.

Животных-биомоделей используют для моделирования различных патологических состояний организма человека, с целью поиска способов и средств устранения этих состояний. Травма спинного мозга (ТСМ) признается одной из главных причин инвалидности. По данным ВОЗ, в мире от 400 до 500 тысяч людей страдают параличом различной тяжести, вызванной травмой спинного мозга. Ранее разработанная нами модель травмы спинного мозга у крыс с помощью криоаппликации признана перспективной для дальнейшей разработки. С помощью данного подхода удалось получить стандартный воспроизводимый глиальный рубец спинного мозга у крыс SD, полученных из Биоресурсной коллекции ИБХ РАН. Разработанная модель может быть использована в нейрохирургической практике для исследования функции самовосстановления спинного мозга и создания подходов для его регенерации.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Абрикосова В.А. 9, 13
Астраханцева И.В. 40
Асютин Д.С. 5
Балабашин Д.С. 13
Баранова М.Н. 9, 13, 36
Белогуров А.А. 8, 14, 30
Бервинова А.В. 23
Бобик Т.В. 13, 25
Бороздина Н.А. 17
Быканов А.Е. 16
Бычков М.Л. 39
Волков Д.В. 4, 28
Габибов А.Г. 4, 15
Гаврюшин А.В. 10
Гамалея А.А. 33
Голанов А.В. 27
Грачев Н.С. 16
Деев С.М. 4
Декопов А.В. 32
Захарова М.Ю. 18
Зенкова М.А. 4
Ишина И.А. 18
Казаков В.А. 12, 19
Калиберда Е.Н. 13
Калинин Р.С. 4
Каххаров Р.А. 7
Коновалов А.Н. 7
Коновалов Н.А. 5
Костин Н.Н. 25
Круть В.А. 40
Кудряева А.А. 8, 14
Курбацкая И.Н. 30, 38
Ларина Е.Н. 9, 13
Ломакин Я.А. 9, 13, 35
Люкманова Е.Н. 39
Макашова Е.С. 27
Мамедов А.Э. 3, 18, 30
Матуев К.Б. 16
Минаков А.Н. 12, 19, 29
Мокрушина Ю.А. 9, 13, 26, 31
Недоспасов С.А. 40
Овчинникова Л.А. 9, 13
Паликов В.А. 12, 29
Пипия С.О. 26
Пицхелаури Д.И. 5, 16
Пошатаев В.К. 24
Родионов М.В. 6, 21
Саватеев А.Н. 27
Саушев Д.А. 27
Северюхина М.С. 22
Семёнов Д.Э. 16
Симонова М.А. 25
Скрябин Г.А. 25, 37
Смирнов И.В. 15, 26, 30
Спаллоне А. 11
Степанов А.В. 4, 28
Телегин Г.Б. 6, 12, 21, 29, 41
Терехов С.С. 13, 15, 26
Украинская В.М. 34
Цабай П.Н. 25
Черников И.В. 4
Чернов А.С. 6, 12, 19, 21, 29
Шайхутдинова Э.Р. 22
Шевченко К.В. 20
Шипунова В.О. 4
Шульга А.А. 4