

МЕЖИНСТИТУТСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ  
по результатам проектов,  
поддержанных  
Российским научным фондом

Современные проблемы  
физико-химической  
и клеточной биологии:  
от молекул  
К ЖИВЫМ СИСТЕМАМ

24-25 октября 2018 г.  
ИБХ РАН

# МЕЖИНСТИТУТСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

по результатам проектов, поддержанных Российским научным фондом



ФИЦ Биотехнологии

## СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ И КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ: ОТ МОЛЕКУЛ К ЖИВЫМ СИСТЕМАМ

ПРИ ПОДДЕРЖКЕ И СОТРУДНИЧЕСТВЕ



Российский научный фонд



Российская академия наук



Федеральное агентство научных организаций



Министерство науки и высшего образования РФ

24-25 ОКТЯБРЯ 2018 г., ИБХ РАН

# СОДЕРЖАНИЕ

ОРГАНИЗАТОРЫ КОНФЕРЕНЦИИ.....	6
О КОНФЕРЕНЦИИ.....	7
ПРОГРАММА .....	8
ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ.....	12
Белки и пептиды в постгеномную эру. Структурно-функциональные исследования для решения фундаментальных задач и направленного конструирования инновационных лекарственных средств	
А.Г. Габибов .....	12
Системное исследование биоразнообразия пептидов (пептидомика)	
В.Т. Иванов .....	13
Фундаментальные и прикладные аспекты исследований плюрипотентных стволовых клеток	
А.Н. Томилин.....	14
Молекулярно-клеточные технологии для лечения социально значимых заболеваний: перспективный облик ИНЦ РАН по итогам реализации комплексной программы	
Н.А. Михайлова.....	15
Микробы и электричество	
В.Г. Дебабов.....	16
Сравнительный анализ функционирования рецептора ЭФР в стволовых и трансформированных клетках человека	
М. Харченко, Р. Каменцева, В. Кошеверова, М. Истомина, О. Семенов, И. Литвинов, А. Салова, Т. Беляева, Е. Корнилова .....	17
Структурные основы передачи сигнала через трансмембранные домены битопных рецепторов	
Э.В. Бочаров, Д.М. Лесовой, О.В. Бочарова, А.С. Урбан, С.А. Гончарук, К.С. Минеев, К.Д. Надеждин, П.Е. Волынский, Р.Г. Ефремов, А.С. Арсеньев .....	18
Социально-значимые биокатализаторы: поиск, создание и структурно-функциональный анализ	
С.С. Терехов, Ю.А. Мокрушина, А.М. Куджаев, А.Г. Андрианова, М.Ю. Захарова, С.О. Пипия, А.С. Назаров, Д.В. Данилов, А.А. Зинченко, Е.Н. Калиберда, Т.В. Ротанова, Л.Д. Румш, И.В. Смирнов .....	19
Пептидные факторы системы врождённого иммунитета	
Т.В. Овчинникова, С.В. Баландин, И.В. Богданов, И.А. Болосов, А.А. Емельянова, С.К. Завриев, А.А. Калашников, Д.В. Кузьмин, М.Б. Маргграф, Д.Н. Мельникова, П.В. Пантелеев, Е.А. Рогожин, С.В. Суханов, С.В. Сычев, А.А. Тагаев, Е.И. Финкина, З.О. Шенкарев, В.Т. Иванов ..	20
Метагеномика как инструмент изучения некультивируемых микроорганизмов	
Н.В. Равин .....	21
Химия света: флуоресцентные белки, люциферины, люциферазы	
И.В. Ямпольский, Я.В. Болт, А.Ю. Гороховатский, А.А. Котлобай, Т.Ю. Митюшкина, К.А.	

Палкина, В.Н. Петушков, Т.В. Чепурных, А.И. Бубырев, В.А. Соловьева, И. Мяснянко, Е.С. Шахова .....	22
Использование биосенсора перекиси водорода нурег для определения редокс-характеристик стволовых клеток О.Г. Люблинская .....	23
Центр клеточных технологий - от разработки клеточных продуктов до их производства М. Хотин .....	24
Индукция миелин-реактивных аутоантител на фоне иммунизации антигеном LMP1 вируса Эпштейна-Барр Я.А. Ломакин, А.А. Белогуров, А.Г. Габибов .....	25
Экстремофильные археи как источник новых гликозидаз И.В. Кубланов.....	26
Глицеральдегид-3фосфатдегидрогеназа как новая биологическая мишень В.Ф. Лазарев, М.А. Микеладзе, Е.А. Дутышева, Е.Ю. Комарова, И.В. Гужова, Б.А. Маргулис ..	27
Дизайн флуоресцентного диагностического маркера активной прогрессирующей формы рассеянного склероза А. Каминская, Я. Ломакин, М. Захарова, Г. Телегин, А. Габибов, А. Белогуров .....	28
Функциональное значение компонентов убиквитин-протеасомной системы при репрограммировании и дифференцировке клеток млекопитающих А. Селенина, Е. Бахмет, А. Газизова, С. Синенко, У. Зайферт, А. Томилин, А. Цимоха.....	29
Мастер-регуляторные белки и гены развития и канцерогенеза на примере поджелудочной железы И.В. Алексеенко, Т.В. Виноградова, Д.А. Дидыч, М.В. Зиновьева, Л.Г. Кондратьева, Е.П. Копанцев, М.Б. Костина, А.И. Кузьмич, Г.С. Монастырская, В.В. Плешкан, Е.Д. Свердлов, Д.В. Антонова, И.П. Чернов, Д.А. Гнатенко, В.И. Егоров, М.Р. Копанцева, О.В. Мелехина, Р.А. Полтавцева .....	30
Стволовые клетки - основа клеточных технологий Н.Н. Никольский .....	31
Шаперонные лекарства для терапии онкологических и нейродегенеративных заболеваний: разработка и апробация И. Гужова, Е. Дутышева, В. Карцев, Л. Колударова, Е. Комарова, В. Лазарев, Д. Мешалкина, Е. Михайлова, А. Никотина, Д. Сверчинский, Р. Суезов, М. Шевцов, Б. Маргулис .....	32
Динамика гликолипидов в клеточных мембранах и модельных системах Н.В. Бовин, В.А. Олейников, Р.Г. Ефремов.....	33
Биоконверсии растительного сырья А.П. Синицын .....	34
Роль аутофагии в регуляции плюрипотентного состояния эмбриональных стволовых клеток И.И. Суворова, В.А. Поспелов.....	35
Гены, исчезнувшие в эволюции, как регуляторы развития мозга и регенерации А.В. Байрамов, Г.В. Ермакова, Ф.М. Ерошкин, А.С. Иванова, Н.Ю. Мартынова, М.Б. Терешина, А.Г. Зарайский.....	36

Структура и механизмы активации рецепторных тирозинкиназ А.Г. Петренко .....	37
Использование методов тканевой инженерии и клеточной терапии для реконструкции органов мочевыделительной системы Н. Юдинцева, Ю. Нащекина, М. Блинова, М. Шевцов, А. Муравьев, Н. Орлова, Т. Виноградова, А. Горелова, М. Шейхов, А. Горелов, И. Самусенко, Б. Николаев, Л. Яковлева, Н. Михайлова .38	
Новые геномные детерминанты дыхательного метаболизма у экстремофильных архей С.Н. Гаврилов, А.И. Слободкин, Д.Ю. Сорокин, И.М. Елизаров, А.В. Марданов, О.В. Гольшина, С.В. Тошаков, И.В. Кубланов .....	39
Старение эндометриальных стромальных клеток человека: характерные признаки и возможные последствия А.В. Бородкина, А.А. Грюкова, П.И. Дерябин, Е.Б. Бутова, А.Н. Шатрова, Н.Н. Никольский ....	40
Применение химерных антигенных рецепторов Т-клеток слитных с лигандами В- и Т-клеточных рецепторов для терапии лейкемии и лимфомы А.В. Степанов, Р.С. Калинин, А.А. Белогуров, А.Г. Габибов.....	41
Линкерные белки H1 и HmgB1 в хроматине эмбриональных стволовых клеток мыши Т. Старкова, Т. Артамонова, Е. Чихиржина, М. Ходорковский, А. Томилин .....	42
Особенности презентации миелиновых аутоантигенов на комплексах гистосовместимости второго класса, катализируемой HLA-DM А. Мамедов, М. Захарова, О. Фаворова, О. Кулакова, А. Бойко, В. Кнорре, Н. Воробьева, Е. Хурс, И. Киселев, Н. Баулина, А. Габибов, А. Белогуров.....	43
Таргетная элиминация стареющих опухолевых клеток при ингибировании Ras-сигнального пути Е.Ю. Кочеткова, Г.И. Блинова, В.А. Пospelов, Т.В. Пospelова .....	44
Универсальные CART на основе комплекса барназа-барстар для терапии онкологических заболеваний Р.С. Калинин, А.В. Степанов, С.М. Деев, А.Г. Габибов .....	45
АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ .....	46

# ОРГАНИЗАТОРЫ КОНФЕРЕНЦИИ

---

## ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ

**Иванов Вадим Тихонович, академик (сопредседатель)**

**Никольский Николай Николаевич, академик (сопредседатель)**

**Бонч-Осмоловская Елизавета Александровна, член-корреспондент (зам. председателя)**

**Томилин Алексей Николаевич, член-корреспондент (зам. председателя)**

**Габибов Александр Габибович, академик**

**Белогуров Алексей Анатольевич, доктор химических наук**

**Ефремов Роман Гербертович, доктор физико-математических наук**

**Михайлова Наталья Аркадьевна, доктор биологических наук**

## ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ

**Габибов Александр Габибович, академик (председатель)**

**Бонч-Осмоловская Елизавета Александровна, член-корреспондент (зам. председателя)**

**Ефремов Роман Гербертович, доктор физико-математических наук (зам. председателя)**

**Михайлова Наталья Аркадьевна, доктор биологических наук (зам. председателя)**

**Томилин Алексей Николаевич, член-корреспондент**

**Гончарук Сергей Александрович, кандидат биологических наук**

**Елякова Елена Георгиевна, кандидат химических наук**

**Пименов Николай Викторович, доктор биологических наук**

## КОНТАКТЫ ДЛЯ СВЯЗИ

**+7 (916) 963-37-19**

**[elyakova@yandex.ru](mailto:elyakova@yandex.ru)**

**Елякова Елена Георгиевна**

## О КОНФЕРЕНЦИИ

---

В 2014 году Российский научный фонд (РНФ) провел конкурс на получение грантов по приоритетному направлению деятельности РНФ «Реализация комплексных научных программ организаций». В число победителей (16 организаций) конкурса со своими масштабными научными проектами вошли ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (ИБХ РАН, РНФ 14-50-00131) и Институт цитологии РАН (ИНЦ РАН, РНФ 14-50-00068).

Кроме того, в состоявшемся в 2017 г. конкурсе РНФ «Проведение исследований научными лабораториями мирового уровня в рамках реализации приоритетов научно-технологического развития Российской Федерации» Президентской программы исследовательских проектов, реализуемых ведущими учеными, в том числе молодыми учеными, в качестве победителей были признаны Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН (ФИЦ БТ РАН, РНФ 17-74-30025) и ИБХ РАН (РНФ 17-74-30019).

Завершающиеся в этом году комплексные проекты ИБХ РАН и ИНЦ РАН позволяют обобщить накопленный за прошедшее пятилетие огромный научный материал (свыше 300 публикаций в реферируемых журналах), полученный богатый опыт проведения междисциплинарных исследований мирового уровня и организационного сопровождения таких сложных проектов. Кроме того, отдельного внимания заслуживает и демонстрация значительно окрепшей при поддержке РНФ материально-технической базы указанных передовых коллективов.

Для наглядного и эффективного освещения итогов двух «мега-проектов» РНФ было принято решение провести Межинститутскую научную конференцию «Современные проблемы физико-химической и клеточной биологии: от молекул к живым системам». Учитывая высокий научный уровень отчетной Конференции, было признано целесообразным совместить ее проведение со Школами молодых ученых, организуемыми в рамках проектов научных лабораторий мирового уровня ФИЦ БТ РАН и ИБХ РАН. Для молодежи из состава коллективов этих проектов подобный симбиоз дает редкую возможность ознакомиться с результатами ведущих лабораторий и маститых ученых, руководителей и основных исполнителей комплексных проектов институтов РАН - лидеров в области физико-химической и клеточной биологии.

Научная программа Конференции включает пленарные лекции руководителей проектов и основных научных направлений в рамках комплексных проектов РНФ, пленарные и секционные доклады ведущих исполнителей четырех проектов РНФ, а также выступления молодых учёных. Будут представлены основные научные достижения, полученные в ходе выполнения проектов; показаны созданные участниками новые методы и подходы, которые помогли решить поставленные задачи; продемонстрированы основные научные и научно-организационные показатели, которых удалось достичь с использованием средств грантов.

Уникальной особенностью Конференции является ее междисциплинарный, межинститутский характер, а также сопряжение научного форума мирового уровня со Школой молодых ученых. Это позволяет в рамках одного мероприятия обсудить исследовательские задачи, решаемые тремя ведущими институтами РАН – ИБХ, ИНЦ и ФИЦ БТ. Широкий охват научных тематик Конференции (2 комплексных проекта РНФ и 2 проекта по поддержке лабораторий мирового уровня) дает отличную возможность участникам, особенно молодым ученым, получить ценную информацию о новых возможностях и достижениях в самых передовых направлениях наук о жизни.

# ПРОГРАММА

**24 ОКТЯБРЯ 2018 Г. (СРЕДА), БОН, МАЛЫЙ КОНФЕРЕНЦ-ЗАЛ**

8:15 Начало регистрации

8:45 Открытие конференции

**Председатель: академик Свердлов Е.Д.**

9:00 - 9:35 академик Габибов А.Г. (ИБХ РАН) Белки и пептиды в постгеномную эру. Структурно-функциональные исследования для решения фундаментальных задач и направленного конструирования инновационных лекарственных средств

9:35 - 10:10 академик Иванов В.Т. (ИБХ РАН) Системное исследование биоразнообразия пептидов (пептидомика)

10:10 - 10:40 член-корр. Томилин А.Н. (ИНЦ РАН) Индуцированные плюрипотентные клетки – фундаментальные и прикладные исследования

10:40 - 10:55 *Перерыв на кофе*

**Председатель: д.х.н. Овчинникова Т.В.**

10:55 - 11:15 д.б.н Михайлова Н.А. (ИНЦ РАН) Молекулярно-клеточные технологии для лечения социально значимых заболеваний: перспективный облик ИНЦ РАН по итогам реализации комплексной программы

11:15 - 11:50 академик Дебабов В.Г. (ГосНИИгенетика) Микробное электричество

11:50 - 12:15 д.б.н. Корнилова Е.С. (ИНЦ РАН) Сравнительный анализ функционирования рецептора ЭФР в стволовых и трансформированных клетках человека

12:15 - 12:40 к.х.н. Бочаров Э.В. (ИБХ РАН) Структурные основы передачи сигнала через трансмембранные домены битопных рецепторов

12:40 - 13:00 д.х.н. Смирнов И.В. (ИБХ РАН) Направленное изменение функциональных свойств биокатализаторов

13:00 - 14:00 *Перерыв на обед*

**Председатель: член-корр Бонч-Осмоловская Е.А.**

14:00 - 14:35 д.х.н. Овчинникова Т.В. (ИБХ РАН) Пептидные факторы врождённого иммунитета



14:35 - 15:00	д.б.н. Равин Н.В. (ФИЦ БТ РАН)	Метагеномика как инструмент изучения некультивируемых микроорганизмов
15:00 - 15:25	д.х.н. Ямпольский И.В. (ИБХ РАН)	Новые природные системы люциферин-люцифераза
15:25 - 15:50	к.б.н. Люблинская О.Г. (ИНЦ РАН)	Использование биосенсора перекиси водорода НуReg для определения редокс-характеристик стволовых клеток
15:50 - 16:00	к.б.н. Хотин М.Г. (ИНЦ РАН)	Центр клеточных технологий - от разработки клеточных продуктов до их производства

16:00 - 16:15 *Перерыв на кофе*

**Председатель: д.х.н. Смирнов И.В.**

16:15 - 16:30	к.б.н. Ломакин Я.А. (ИБХ РАН)	Индукция миелин-реактивных аутоантител на фоне иммунизации антигеном LMP1 вируса Эпштейна-Барра
16:30 - 16:45	к.б.н. Кубланов И.В. (ФИЦ БТ РАН)	Экстремофильные археи как источник новых гликозидаз
16:45 - 17:00	к.б.н. Лазарев В.Ф. (ИНЦ РАН)	Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа как новая биологическая мишень
17:00 - 17:10	к.б.н. Каминская А.Н. (ИБХ РАН)	Дизайн флуоресцентного диагностического маркера активной прогрессирующей формы рассеянного склероза
17:10 - 17:20	Селенина А.В. (ИНЦ РАН)	Функциональное значение компонентов убиквитин-протеасомной системы при репрограммировании и дифференцировке клеток млекопитающих

## 25 ОКТЯБРЯ 2018 Г. (ЧЕТВЕРГ), БОН, МАЛЫЙ КОНФЕРЕНЦ-ЗАЛ

**Председатель: д.б.н. Гужова И.В.**

9:00 - 9:35	академик Свердлов Е.Д. (ИБХ РАН)	Мастер-регуляторные белки и гены развития и канцерогенеза на примере поджелудочной железы
9:35 - 10:10	академик Никольский Н.Н. (ИНЦ РАН)	Стволовые клетки - основа клеточных технологий
10:10 - 10:45	д.б.н. Маргулис Б.А. (ИНЦ РАН)	Шаперонные лекарства для терапии онкологических и нейродегенеративных заболеваний:

10:45 - 11:00 *Перерыв на кофе*

**Председатель: д.б.н. Пименов Н.В.**

11:00 - 11:35	д.х.н. Бовин Н.В. (ИБХ РАН)	Динамика гликолипидов в клеточных мембранах и модельных системах
11:35 - 12:00	д.б.н. Сеницын А.П. (ФИЦ БТ РАН)	Биоконверсия возобновляемого растительного сырья
12:00 - 12:25	к.б.н. Суворова И.И. (ИНЦ РАН)	Роль аутофагии в регуляции плюрипотентного состояния эмбриональных стволовых клеток
12:25 - 12:50	к.б.н. Терёшина М.Б. (ИБХ РАН)	Гены, исчезнувшие в эволюции, как регуляторы развития мозга и регенерации

12:50 - 14:00 *Перерыв на обед*

**Председатель: д.б.н. Корнилова Е.С.**

14:00 - 14:35	д.х.н. Петренко А.Г. (ИБХ РАН)	Структура и механизмы активации рецепторных тирозинкиназ
14:35 - 15:00	к.б.н. Юдинцева Н.М. (ИНЦ РАН)	Методы тканевой инженерии и клеточной терапии для реконструкции органов мочевыделительной системы
15:00-15:25	к.б.н. Гаврилов С.Н. (ФИЦ БТ РАН)	Новые геномные детерминанты дыхательного метаболизма у экстремофильных архей
15:25 - 15:50	к.б.н. Бородкина А.В. (ИНЦ РАН)	Старение эндометриальных стромальных клеток человека: характерные признаки и возможные последствия
15:50 - 16:20	д.х.н. Белогуров А.А. (ИБХ РАН)	Круглый стол: “Журнал «Acta Naturae» - перспективы работы с российской научной аудиторией”

16:05 - 16:20 *Перерыв на кофе*

**Председатель: д.х.н. Белогуров А.А.**

16:20 - 16:35	к.б.н. Степанов А.В. (ИБХ РАН)	Новое слово в терапии неходжкинской лимфомы Т-клетками, модифицированными химерными антигенными рецепторами
16:35 - 16:50	к.б.н. Старкова Т.Ю. (ИНЦ РАН)	Линкерные белки H1 и HMGB1 в хроматине эмбриональных стволовых клеток мыши
16:50 - 17:00	Мамедов А.Э. (ИБХ РАН)	Особенности презентации миелиновых аутоантигенов на комплексах гистосовместимости второго класса, катализируемое HLA-DM

17:00 - 17:10	Кочеткова Е.Ю. (ИНЦ РАН)	Таргетная элиминация стареющие опухолевых клеток при ингибировании Ras-сигнального пути
17:10 - 17:20	Калинин Р.С. (ИБХ РАН)	Универсальные CAR-T на основе комплекса барназа-барстар для терапии онкологических заболеваний
17:20	Заккрытие конференции	

# ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

---

## БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ В ПОСТГЕНОМНУЮ ЭРУ. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ЗАДАЧ И НАПРАВЛЕННОГО КОНСТРУИРОВАНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

А.Г. Габибов

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

Комбинаторная химия и биология стали отличительной чертой науки о жизни в XXI веке. Белково-пептидные технологии, связанные с отбором нужных лигандов, рецепторов, ферментов, антител открывают широкие перспективы для создания лекарственных препаратов нового поколения. С целью повышения эффективности технологии скрининга широких репертуаров нами разработаны уникальные микрофлюидные подходы для скрининга микробиоты, биокаталитических клонов, широких репертуаров антител и химерных антигенных рецепторов (Chimeric Antigen Receptors, CAR). Нами разработана новая скрининговая платформа для существенного повышения эффективности и безопасности лечения фолликулярной лимфомы (FL). Комбинаторный скрининг пептидных библиотек патологическими клонами В-клеток, взятыми у пациентов, используется нами для быстрой идентификации специфических пептидных лигандов этих рецепторов на поверхности опухолевых клеток FL. Отобранные пептидные лиганды используются в протоколе лечения с использованием CAR-T технологии.

Другим подходом, непосредственно связанным с методами комбинаторной химии и биологии, является метод скрининга биоразнообразия с помощью микрофлюидных технологий. Методы сверхвысокопроизводительного скрининга могут помочь идентифицировать уникальную функциональную активность из миллионов вариантов. Чтобы имитировать механизмы естественного отбора, которые происходят при компартиментализации *in vivo*, мы разработали метод, основанный на инкапсуляции в каплях монодисперсной микрофлюидной двойной эмульсии. Комбинация каплеобразующей технологии со стандартным клеточным «сортером» с высокой скоростью и чувствительностью (FACS) позволяет разделить отдельные клоны. Затем возможно применить высокопроизводительное секвенирование и высокоэффективную жидкостную хроматографию для подробной характеристики генотипа/фенотипа найденного микроорганизма. Эта платформа была исследована с помощью iHTS для биокатализаторов, привязанных к дрожжам с обогащением, близким к теоретически рассчитанным пределам и клеточным взаимодействиям. Универсальность платформы позволила идентифицировать бактерии, включая медленно растущие виды микроорганизмов, которые подавляют рост общего патогена. Мы разработали новую платформу для созревания молекулы антитела *in silico*. Отбор *in vitro* антител из больших репертуаров иммуноглобулина (Ig) с использованием комбинаторных библиотек является мощным инструментом, обладающим большим потенциалом для создания активных *in vivo* «антитоксиновых» антител. Мы достигли этой цели, используя принципы квантовой механики/молекулярной механики (QM/MM) для имитации созревания антител *in silico*.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-50-00131

## СИСТЕМНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ПЕПТИДОВ (ПЕПТИДОМИКА)

В.Т. Иванов

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

Пептиды представляют собой обширный класс низкомолекулярных биорегуляторов, принимающих участие в большинстве биохимических процессов, протекающих в живых организмах. В настоящем сообщении пептидом рассматривается как производное протеома, образующееся на последней стадии метаболической цепи трансформации первичной генетической информации:

геном → транскриптом → протеом → пептидом

В работе был выполнен анализ пептидомов ряда биологических объектов методом времяпролётной масс-спектрометрии высокого разрешения в сочетании с высокоэффективной жидкостной хроматографией. Интерпретация масс-спектров осуществлялась путём сопоставления экспериментальных данных со спектрами, предсказанными для аминокислотных последовательностей, вытекающих из геномных банков данных.

Был впервые установлен пептидом растительного объекта на примере мха *Physcomitrella patens*. Было идентифицировано более 2000 индивидуальных пептидов и определены их белковые предшественники. Было показано, что более 140 пептидов образуются при трансляции коротких рамок считывания. Для ряда пептидов выявлена функциональная активность в специально разработанных тестах.

Вторая часть сообщения посвящена биомедицинским аспектам применения пептидомных исследований. Анализ пептидного состава спинномозговой жидкости пациентов с инфекционным менингитом и синдромом Гийена-Барре дал важную информацию о патофизиологических механизмах этих заболеваний. Пептидомный анализ плазмы и сыворотки крови выявил устойчиво воспроизводимые различия между образцами здоровых доноров и пациентов с онкологическими заболеваниями (рак яичников, колоректальный рак, лейкемия), что открывает новые перспективы для онкодиагностики. Было впервые показано, что кровь человека содержит существенное число (5-10% от общего числа более 5000) пептидов, генерируемых микробиотой человека. Обсуждается возможная биологическая роль этих пептидов.

Работа поддержана РНФ, проект № 14-50-00131 и РФФИ, проект № 17-00-00461.

# ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

А.Н. Томилин

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург*

Плюрипотентные стволовые клетки выдвинулись на передний край клеточной биологии и, возможно, всей биомедицины в связи с широчайшими возможностями применения этих клеток для моделирования заболеваний и тканезаместительной терапии у человека. Уникальной особенностью этих клеток является способность к самоподдержанию и дифференцировке во все клеточные типы взрослого организма. В докладе будут представлены результаты исследований лаборатории, касающихся как фундаментальных, так и прикладных аспектов плюрипотентных стволовых клеток.

Проекты лаборатории, представленные в докладе, поддержаны грантом РФФИ № 14-50-00068.

# МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СОЦИАЛЬНО ЗНАЧИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ОБЛИК ИНЦ РАН ПО ИТОГАМ РЕАЛИЗАЦИИ КОМПЛЕКСНОЙ ПРОГРАММЫ

Н.А. Михайлова

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург*

Комплексная программа развития Института цитологии РАН, реализуемая в рамках гранта РФФИ №14-50-00068, состоит из трех взаимосвязанных направлений, нацеленных на решение научных проблем, перспективных для лечения социально значимых заболеваний: «Стволовые клетки – основа клеточных технологий», «Эффекторные программы клеточного старения» и «Трансформированные и раковые стволовые клетки как мишени для противоопухолевых средств».

Цели и задачи программы направлены на решение приоритетных задач клеточной биологии, разработку новых методов терапии заболеваний, основанных на фундаментальных исследованиях нормальных, стволовых и опухолевых клеток.

Полученные результаты демонстрируют существенное влияние Комплексной программы на развитие ИНЦ РАН, а именно: повышение уровня фундаментальных и прикладных исследований, укрепление кадрового потенциала, улучшение материально-технической базы, развитие международного сотрудничества, создание наукоемкой продукции, востребованной экономикой и обществом.

Максимальное число исполнителей проекта - 136 чел., среди них 19 аспирантов ИНЦ РАН. Доля молодых ученых составляет 66.7%. В ходе реализации проекта опубликовано более 160 статей WoS и Scopus (сентябрь 2018), защищены 10 кандидатских диссертаций. Результаты работ представлены на престижных научных мероприятиях (более 60 устных докладов). ИНЦ РАН инициировал и организовал регулярную международную конференцию “Cell technologies at the edge: research and practice” (2016, 2018), ежегодный мини-симпозиум «Молекулярная онкология», конференцию «Биомедицинские клеточные продукты – разработка, реализация, производство».

Значительным успехом является повышение уровня прикладных исследований по созданию новых клеточных продуктов для лечения болезней, а также проведение доклинических исследований лекарственных средств по стандарту GLP на клеточных тест-моделях *in vitro*.

Ключевое достижение проекта – организация Центра клеточных технологий, создание которого ликвидирует основной многолетний дисбаланс ИНЦ РАН – дает возможность проводить трансфер биомедицинских технологий в практическое здравоохранение. Центр спроектирован по международному стандарту GMP, оснащен оборудованием мирового уровня, включая роботизированный комплекс для производства БМКП в целях их доклинических и клинических исследований, регистрации и вывода на рынок. Это – первая в России производственная площадка среди институтов РАН, соответствующая требованиям 180-ФЗ РФ и норм GMP и GTP.

Все работы выполнены при поддержке РФФИ, грант № 14-50-00068.

## МИКРОБЫ И ЭЛЕКТРИЧЕСТВО

В.Г. Дебабов

*ГосНИИгенетика-НИЦ «Курчатовский институт», Москва*

Бактерии способны передавать электроны во внешнюю среду либо с помощью молекул переносчиков, либо прямо на твердую поверхность электродов. Способностью к прямому переносу обладает ограниченный круг бактерий, которые носят название электрогены. Явление переноса электронов на анод лежит в основе функционирования микробных топливных элементов (microbial Fuel Cell-MFC). В докладе будет рассмотрено устройство и оптимизация работы MFC и молекулярные механизмы транспорта электронов на электрод. Обратный процесс-передача электронов с катода в бактериальную клетку приводит к электробиосинтезу. В процессе, осуществляемом в устройстве, называемом микробный электролизный элемент (Microbial Electrolysis Cell), микроорганизмы на катоде фиксируют  $\text{CO}_2$  с образованием органических соединений (чаще всего ацетата). В докладе будут рассмотрены параметры и условия электробиосинтеза и механизм фиксации  $\text{CO}_2$  электроактивными бактериями. Производство электроэнергии с помощью микроорганизмов и фиксация  $\text{CO}_2$  с помощью электробиосинтеза являются новыми технологиями, которые экологичны и хорошо сочетаются с очисткой стоков и использованием возобновляемых источников энергии (солнечную и ветер). В докладе будут обсуждены пути совершенствования процессов с акцентом на улучшение свойств микроорганизмов.



## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ РЕЦЕПТОРА ЭФР В СТВОЛОВЫХ И ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

М. Харченко<sup>1</sup>, Р. Каменцева<sup>1</sup>, В. Кошеверова<sup>1</sup>, М. Истомина<sup>1,2</sup>, О. Семенов<sup>1,3</sup>, И. Литвинов<sup>1</sup>, А. Салова<sup>1</sup>, Т. Беляева<sup>1</sup>, Е. Корнилова<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург*

<sup>2</sup>*Санкт-Петербургский Политехнический университет, Санкт-Петербург*

<sup>3</sup>*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург*

Система «эпидермальный фактор роста (ЭФР) – рецептор» является популярной моделью в изучении таких процессов, как передача сигнала, в частности, пролиферативного, и регулируемый эндоцитоз по пути лизосомной деградации. Одна из причин этого – существование постоянных клеточных линий с высоким уровнем рецепторного белка, обеспечивающее надежное выявление лиганд-рецепторных комплексов. Однако, эти клеточные линии получены, как правило, из опухолей, и их рост не зависит от ЭФР. Более того, доказано, что гиперэкспрессия рецептора ЭФР коррелирует со злокачественной трансформацией, и в клинике уже используются лекарства на основе антител к рецептору ЭФР или ингибиторов рецепторной тирозинкиназы.

Очевидно, что поиски нетрансформированных ЭФР-зависимых клеточных линий, чрезвычайно важны для понимания физиологической значимости ЭФР-стимулируемых процессов. Эндометриальные МСК (ЭМСК) человека являются первичной культурой нормальных, клеток, активно пролиферирующих и способных к дифференцировке. Считается, что за высокую пролиферативную активность МСК отвечает набор факторов, отличных от ЭФР. Однако мы обнаружили, что полученные в ИНЦ РАН линии ЭМСК экспрессируют высокий уровень рецептора ЭФР, сравнимый с таковым в клетках линий, происходящих из опухолей. Более того, присутствие ЭФР в среде существенно ускоряло пролиферацию самообновляющихся ЭМСК. Кратковременное воздействие ЭФР на ЭМСК приводит к длительной устойчивой активации MAP-киназ и Akt, тогда как в клетках HeLa она носит транзитный характер.

Анализ внутриклеточного поведения ЭФР-рецепторных комплексов в ЭМСК показал, что они подвергаются эндоцитозу и проходят такой же путь до лизосом, как и в клетках HeLa, хотя в ЭМСК организация везикулярного аппарата и тубулинового цитоскелета имеет некоторые особенности. Так, в клетках HeLa ЭФР-рецепторные комплексы в эндосомах сначала ко-локализуются с сигнальным белком APPL1/2, участвующим в активации генов раннего ответа, после чего ассоциируются с ранними эндосомами, несущими белок EEA1, отвечающий за слияния и созревание эндосом на пути в лизосомы. Оказалось, что в ЭМСК эндосомы могут нести все три белка одновременно, но в сегрегированных доменах, вплоть до попадания в околядерную область. Обсуждается гетерогенность ответов линий ЭМСК.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-50-00068.

## СТРУКТУРНЫЕ ОСНОВЫ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛА ЧЕРЕЗ ТРАНСМЕМБРАННЫЕ ДОМЕНЫ БИТОПНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Э.В. Бочаров, Д.М. Лесовой, О.В. Бочарова, А.С. Урбан, С.А. Гончарук, К.С. Минеев, К.Д. Надеждин, П.Е. Волынский, Р.Г. Ефремов, А.С. Арсеньев

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

Мембранные битопные рецепторы типа I (например, такие как рецепторные тирозинкиназы и рецепторы, ассоциированные с JAK протеинкиназами) принимают непосредственное участие в управлении развития и гомеостаза всех тканей организма человека, играя ведущую роль в процессах клеточного роста, дифференцировки и адгезии. Необходимым условием передачи биохимического сигнала через плазматическую мембрану является димеризация (и/или олигомеризация) битопных рецепторов, как лиганд-зависимая, так и независимая, сопровождаемая конформационными перестройками всех доменов рецептора, включая  $\alpha$ -спиральные трансмембранные домены (ТМД). В ходе выполнения Проекта мы с помощью ЯМР-спектроскопии высокого разрешения в комбинации с молекулярной динамикой исследовали димеризацию ТМД рецепторов в мембраноподобных средах (детергентных мицеллах и липидных бицеллах) для битопных рецепторов из подсемейств рецепторов эпидермальных факторов роста, факторов роста фибробластов и гормона роста человека. Наблюдаемая при альтернативной димеризации ТМД взаимная адаптация межмолекулярных полярных и гидрофобных контактов предполагает, что физико-химические свойства липидного бислоя могут управлять специфическими спираль-спиральными взаимодействиями ТМД и, таким образом, переключать состояние рецептора. При этом патогенные мутации, обнаруженные для данных рецепторов, как правило сосредоточены в определенных участках (так называемых «горячих точках») димеризационных интерфейсов ТМД, что указывает на важность межмолекулярных взаимодействий внутри мембраны для дисфункции данных рецепторов в организме человека. Таким образом, из совокупности биофизических и биохимических данных следует, что функционирование битопных рецепторов обуславливается не только белок-белковыми взаимодействиями, но и состоянием локального липидного окружения как одного из главных компонентов самосогласованной сигнальной системы. Новый липид-опосредованный механизм передачи межклеточного сигнала через мембрану дополняет молекулярные схемы функционирования битопных рецепторов типа I, предложенные ранее, и объясняет ряд парадоксов, наблюдаемых при активации рецепторов дикого типа и рецепторов с патогенными трансмембранными мутациями.

Работа выполнена при поддержке РФФ, проект №14-50-00131.

## СОЦИАЛЬНО-ЗНАЧИМЫЕ БИОКАТАЛИЗАТОРЫ: ПОИСК, СОЗДАНИЕ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ

С.С. Терехов, Ю.А. Мокрушина, А.М. Куджаев, А.Г. Андрианова, М.Ю. Захарова, С.О. Пипия, А.С. Назаров, Д.В. Данилов, А.А. Зинченко, Е.Н. Калиберда, Т.В. Ротанова, Л.Д. Румш, И.В. Смирнов

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

Биокаталитическая функция – это одна из наиболее совершенных функций свойственных живым системам. Эта функция реализуется в ограниченном наборе биологических объектов, основная доля из которых приходится на белковые молекулы – ферменты и антитела. Биокаталитическая активность находит широкое применение в различных сферах современной промышленной и фармацевтической биотехнологии. Немаловажным является роль ферментативных процессов при развитии различных патологических процессов. В нашей работе мы разработали платформу для высокопроизводительного скрининга функционально активных биокатализаторов (ферментов и антител) и их ингибиторов с помощью системы дрожжевого дисплея. Данная технология универсальна и позволяет проводить поиск соединений, обладающих любой функциональной активностью, в том числе антибиотической.

В ходе реализации проекта были проведены исследования по изучению механизмов действия ферментов социально значимых и опасных, в частности, свойств делеционной формы Lon-протеиназы, одной из ключевых компонентов системы контроля качества белков, поддерживающей сохранность клеточного протеома. Были проведены исследования IgA1 протеазы, одного из факторов патогенности микроорганизмов, которая действие приводит к ослаблению иммунитета слизистых. Это проявляется к усилению адгезии бактерий на эпителии и колонизации ими слизистых. Был определен механизм устойчивости протеазы ВИЧ-1 к большинству ингибиторов I-го поколения. Таким образом, полученные в ходе выполнения проекта имеют перспективы прикладного применения для защиты организма от патогенных высокомолекулярных соединений.

Работа поддержана РНФ, проект № 14-50-00131.

## ПЕПТИДНЫЕ ФАКТОРЫ СИСТЕМЫ ВРОЖДЁННОГО ИММУНИТЕТА

Т.В. Овчинникова, С.В. Баландин, И.В. Богданов, И.А. Болосов, А.А. Емельянова, С.К. Завриев, А.А. Калашников, Д.В. Кузьмин, М.Б. Маргграф, Д.Н. Мельникова, П.В. Пантелеев, Е.А. Рогожин, С.В. Суханов, С.В. Сычев, А.А. Тагаев, Е.И. Финкина, З.О. Шенкарев, В.Т. Иванов

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

Эндогенные антимикробные пептиды (АМП) – эволюционно древние факторы системы врожденного иммунитета многоклеточных организмов, играющие ключевую роль в их защите от инфекции. Каждый биологический вид вырабатывает свой уникальный набор АМП, позволяющий ему успешно бороться с патогенной микрофлорой. Сходные по защитным функциям и разнообразные по структуре пептиды были выделены из тканей беспозвоночных и позвоночных животных, а также растений. АМП проявляют активность в отношении бактерий, мицелиальных и дрожжевых грибов, простейших, оболочечных вирусов, а также могут играть роль медиаторов иммунной системы. АМП отличаются спектрами антимикробной активности и способны взаимно дополнять и усиливать друг друга. АМП также характеризуются широкой вариативностью механизмов действия, включающих не только нарушение барьерной функции мембраны клетки-мишени, но и специфическое ингибирование процессов метаболизма за счет взаимодействий с молекулами на поверхности или внутри клетки. Эндогенные АМП могут также играть роль медиаторов иммунной системы (иммуномодуляторов), активируя фагоцитоз и хемотаксис, стимулируя выработку цитокинов. В рамках проекта изучены структуры, биологические функции и механизмы действия ряда АМП растительного и животного происхождения. Рассмотрен вопрос о биологической значимости антимикробных свойств, наблюдаемых в условиях *in vitro*. Исследованы основные механизмы мембранотропного действия АМП и проанализированы причины селективности взаимодействия с микробной мембраной. Поиск и исследование АМП, выполняющих функции защитных факторов животных и растений, позволяет лучше понять закономерности функционирования системы врожденного иммунитета и открывает путь к разработке новых лекарственных средств.

Исследование выполнено за счёт гранта РФФИ, проект № 14-50-00131.

# МЕТАГЕНОМИКА КАК ИНСТРУМЕНТ ИЗУЧЕНИЯ НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Н.В. Равин

*Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва*

Микробиология XX века была построена на исследовании чистых культур, что дало представление о разнообразии метаболических путей микроорганизмов, осуществляемых ими биохимических процессах, и их роли в биосфере. С развитием молекулярных методов исследования микроорганизмов стало очевидно, что более 99% микроорганизмов из природных экосистем невозможно культивировать в лабораторных условиях. Так, из примерно 100 известных филумов прокариот около половины не имеют культивируемых представителей. Геномный анализ является основным инструментом для изучения «некультивируемых» микроорганизмов, при этом используется два основных подхода, метагеномный анализ и анализ генома единичной клетки. Первый из них основан на расшифровке и анализе коллективного генома (метагенома) микробного сообщества. Анализ метагеномных данных с помощью биоинформатики позволяет не только охарактеризовать состав и генетический потенциал сообщества, но и выделить из метагенома геномы отдельных видов микроорганизмов, в том числе и «некультивируемых».

С помощью методов метагеномики мы исследовали микробные сообщества экстремальных экосистем. Объектами исследований были подземные воды Западно-Сибирского региона, залегающие на глубине 2-3 км. Эти экологические ниши характеризуются анаэробными условиями, высоким давлением и повышенной температурой. Анализ метагеномов этих микробных сообществ показал, что во многих случаях среди обнаруженных микроорганизмов менее половины относились к известным видам, а остальные представляли «некультивируемые» группы, часть из них были ранее не известны даже по последовательностям генов 16S рРНК. Анализ метагеномов позволил получить около 50 геномов микроорганизмов, среди которых были представители «некультивируемых» филумов *Aminicenantes*, *Armatimonadetes*, *Riflobacteria* и BRC1. В результате секвенирования геномов единичных клеток из микробных сообществ подземных термальных вод и донных осадков озера Байкал получены геномы бактерий, представляющих филумы *Aerophobetes*, *Aminicenantes*, *Atribacteria*, *Caldiserica*, *Parcubacteria*, *Microgenometes* и NC10.

Работы коллектива были поддержаны грантом РФФИ № 14-14-01016.

## ХИМИЯ СВЕТА: ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЕ БЕЛКИ, ЛЮЦИФЕРИНЫ, ЛЮЦИФЕРАЗЫ

И.В. Ямпольский, Я.В. Болт, А.Ю. Гороховатский, А.А. Котлобай, Т.Ю. Митюшкина, К.А. Палкина, В.Н. Петушков, Т.В. Чепурных, А.И. Бубырев, В.А. Соловьева, И. Мяснянко, Е.С. Шахова

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

Биолюминесценция – излучение света живыми организмами – широко распространена в природе. По современной оценке, существует около 40 различных химических механизмов «холодного свечения». Излучение кванта света происходит в результате окисления молекулы органического субстрата – люциферина – при катализе ферментом – люциферазой. Среди высших грибов более 100 видов обладают способностью светиться в темноте. За последние годы международной команде исследователей под руководством докладчика удалось расшифровать структуры двух новых люциферинов и выяснить механизмы их работы. В 2016 эта же группа установила последовательность и клонировала люциферазу грибов и ферменты биосинтеза люциферина. В докладе освещены работы по расшифровке строения люциферинов, механизмы излучения света, клонирование биолюминесцентных ферментов и раскрыты перспективы их практического использования.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-50-00131.

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОСЕНСОРА ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА НУРЕР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РЕДОКС-ХАРАКТЕРИСТИК СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

О.Г. Люблинская

*Институт Цитологии РАН, Санкт-Петербург*

Активные формы кислорода (АФК) – продукты метаболизма молекулярного кислорода, образующиеся в клетках аэробных организмов. АФК выступают в роли вторичного посредника в клеточных сигнальных каскадах, и одновременно являются опасными внутриклеточными окислителями. При локальном повышении уровня АФК в клетке двойственная роль этих метаболитов – как токсинов или вторичных посредников – может быть реализована за счет разницы в концентрации и длительности этих импульсов, а также за счет разной внутриклеточной локализации источника АФК. Тем не менее, задача количественного определения концентрации АФК в живых клетках еще не решена. Так, все существующие оценки уровня перекиси водорода, одного из ключевых внутриклеточных про-оксидантов, выполнены на основе измерений концентрации  $H_2O_2$  вне клеток и носят пока очень приблизительный характер (1 – 700 нМ, Stone and Yang, 2006). Нет ни численных оценок масштаба колебаний базальной концентрации  $H_2O_2$  в процессе жизни клеток *in vivo* и *in vitro*, ни оценок вариабельности этого параметра в клетках разного типа и происхождения. Мало данных о скорости генерации и элиминации  $H_2O_2$  в клетках разного типа. Во многом, скудность имеющейся информации о численном значении редокс-параметров клеток объясняется ограниченностью методической базы, доступной для исследований редокс-гомеостаза клеток в прошлые годы. Недавнее распространение в лабораторной практике генетически-кодируемых флуоресцентных биосенсоров редокс-активных соединений позволяет продвинуться вперед в решении этих вопросов. В настоящей работе для количественного определения редокс-параметров культивируемых стволовых и дифференцированных клеток человека предлагается использовать генетически кодируемый флуоресцентный биосенсор перекиси водорода НуРер. В работе проанализирована кинетика окисления биосенсора при инкубации клеток с перекисью водорода, и на основе полученных данных с использованием уравнений, описывающих кинетику окисления/восстановления внутриклеточных белков (Brito and Antunes, 2014), определены ключевые редокс-параметры клеток, в том числе базальная внутриклеточная концентрация  $H_2O_2$  в условиях нормального метаболизма клеток, а также константа скорости элиминации  $H_2O_2$ .

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-50-00068.

## ЦЕНТР КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ - ОТ РАЗРАБОТКИ КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ ДО ИХ ПРОИЗВОДСТВА

М. Хотин

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург*

Новые технологии на основе живых клеток человека постепенно входят в практическое здравоохранение во всем мире и позволяют успешно бороться с ранее неизлечимыми патологиями. Институт цитологии РАН является пионером и одним из лидеров в Российской Федерации в области разработки и применения клеточных продуктов. Такие разработки ведутся в Институте уже более 25 лет. Наиболее успешные из них с 2006 года применяются для восстановления обширных поврежденной кожи и лечения трофических язв. Однако ранее существовали препятствия для развития таких исследований. Условием успешности прикладных разработок является, в том числе, и возможность их внедрения. Существенным требованием для этого в случае клеточных технологий является наличие соответствующей инфраструктуры – не только исследовательских лабораторий, но производственных мощностей, биобанков, внедрение необходимых стандартов менеджмента качества.

В рамках реализации комплексной программы развития организации, реализуемой в ИНЦ РАН при поддержке Российского научного фонда (РНФ) в период 2015-2018 гг, удалось преодолеть это ограничение и обновить инфраструктуру, необходимую для выполнения НИР, впервые создать опытное производство биомедицинских клеточных продуктов. Созданное производство уникально для России и первое в структуре Академии наук. Таким образом, к 2017 году создана новая структура - Центр клеточных технологий.

В составе ЦКТ ИНЦ РАН структурно разделены и внедрены этапы разработки БМКП, тканеинженерных конструкций, их компонентов (белков внеклеточного матрикса и биополимерных мембран), доклинических исследования и производства. Используется роботизированные технологии культивирования, биобанкирования и анализа клеток, которые позволяют обеспечить стандартизацию и высокую производительность всех этапов работы. Внедряются системы надлежащих практик: GLP (good laboratory practice) для доклинических исследований и GMP (good manufacture practice) для производства. Центр клеточных технологий это современная, соответствующая международным стандартам структура, которая способна обеспечить весь цикл инновационной разработки в области клеточных технологий от НИР до производства.

Все работы выполнены при поддержке РНФ, грант № 14-50-00068.



## ИНДУКЦИЯ МИЕЛИН-РЕАКТИВНЫХ АУТОАНТИТЕЛ НА ФОНЕ ИММУНИЗАЦИИ АНТИГЕНОМ LMP1 ВИРУСА ЭПШТЕЙНА-БАРР

Я.А. Ломакин<sup>1,2</sup>, А.А. Белогуров<sup>1,2,3</sup>, А.Г. Габибов<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>*Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва;*

<sup>2</sup>*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань;*

<sup>3</sup>*Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва*

Рассеянный склероз является хроническим воспалительным заболеванием центральной нервной системы. На сегодняшний день очевидно, что наряду с участием Т-клеток активация В-клеток также необходима для развития данной патологии. Несмотря на обилие работ, посвященных роли аутореактивных В-клеток, патологические аутоиммунные антитела и процессы их образования до сих пор недостаточно охарактеризованы. Кроссреактивность собственных и вирусных антигенов рассматривается в качестве возможного механизма развития рассеянного склероза. Мы показали, что антитела, специфичные к основному белку миелина (ОБМ), могут также взаимодействовать и с белком LMP1 (*latent membrane protein 1*) вируса Эпштейн-Барр. Используя мышинные модели *in vivo*, было показано, что антитела, первоначально индуцированные против вирусного белка LMP1, способны специфически взаимодействовать с ОБМ. Мы полагаем, что и хроническое, и множественное острое контактирование с вирусным антигеном может способствовать перепрограммированию В-клеток из продуцирования противовирусных антител к антителам, специфичным к миелиновому антигену. Необходимо отметить, что не смотря на гомогенность популяции иммунизированных линейных мышей, развитие кросс-реактивного ответа наблюдается только у 20% особей, иммунизированных LMP1. Таким образом, в одинаковых условиях образование анти-миелиновых антител при контакте с вирусом Эпштейн-Барр может носить в том числе и вероятностный характер. Это исследование подтверждает возможную роль противовирусных миелин-реактивных антител как в индукции рассеянного склероза, так и в усилении развития заболевания.

Работа поддержана РНФ, проект № 17-74-30019.

## ЭКСТРЕМОФИЛЬНЫЕ АРХЕИ КАК ИСТОЧНИК НОВЫХ ГЛИКОЗИДАЗ

И.В. Кубланов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва;

<sup>2</sup>ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Археи представляющие, наряду с бактериями и эукариотами, третий домен жизни, являются важным компонентом микробиоты Земли. Обнаруживаемые повсеместно они зачастую являются минорными компонентами экосистем, однако в некоторых местообитаниях, в основном экстремальных, они доминируют и, таким образом, являются основными детерминантами происходящих там биологических процессов. Древность происхождения и экстремальность местообитаний обуславливают то, что у многих архей обнаружены уникальные метаболические пути с новыми ферментами, транспортерами, регуляторными механизмами и т.д. Помимо новизны экстремальность мест обитания многих архей обуславливает повышенную стабильность, синтезируемых ими молекул, в частности ферментов – т.н. экстремозимов. Все это определяет их биотехнологический потенциал, в первую очередь в метаболической инженерии, синтетической биологии и так называемых «белых биотехнологиях», в частности в производстве биотоплива из дешевого органического сырья – т.н. биотоплива второго поколения, получаемого из лигноцеллюлозы, ксилана и их производных.

Целью данной работы является поиск новых экстремофильных (в первую очередь термофильных и галофильных) архей, способных разлагать полисахариды, относящиеся к «сырью второго поколения», выявление механизмов разложения данных полисахаридов и вовлечения их в центральный метаболизм сахаров. Особый акцент мы делаем на выявление и характеристику новых высоко стабильных гликозидаз (в частности, целлюлаз, ксиланаз и др.), участвующих в этом процессе. В ходе работы нам удалось выделить более десяти штаммов гипертермофильных и галофильных архей-полисахаридолитиков, реконструировать *in silico* метаболизм углеводов ряда из них, обнаружить и охарактеризовать уникальную термостабильную мультидоменную целлюлазу гипертермофильной археи *Thermococcus* sp., получить из новых галоархей препараты целлюлаз активных при 4М NaCl и многое другое.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-74-30025.

## ГЛИЦЕРАЛЬДЕГИД-3ФОСФАТДЕГИДРОГЕНАЗА КАК НОВАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ МИШЕНЬ

В.Ф. Лазарев, М.А. Микеладзе, Е.А. Дутышева, Е.Ю. Комарова, И.В. Гужова, Б.А. Маргулис

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург*

Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (ГАФД) – ключевой фермент гликолитического цикла. Тем не менее в последние годы учеными были продемонстрированы многие другие функции этого белка. ГАФД задействован в репарации ДНК, ответе клетки на окислительный стресс, фермент участвует в апоптозной сигнализации. ГАФД чутко реагирует на изменение «редокс-статуса» клетки, что может приводить к денатурации фермента. Подобные события характерны и для нейродегенеративных, и для онкологических заболеваний.

Так, появление в нейронах или в межклеточном пространстве бета-амилоида либо развитие нейровоспалительных процессов неизбежно приводит к окислительному стрессу. Окисление фермента при нейродегенеративных заболеваниях приводит к формированию цитотоксичных агрегатов с участием ГАФД. Такие агрегаты способны выходить в межклеточное пространство и вызывать гибель окружающих клеток.

С другой стороны, опухолевые клетки при онкологических заболеваниях вынуждены существовать в условиях гипоксии. Изменение гомеостаза активных форм кислорода в клетке сказывается на многих физиологических процессах, в том числе может влиять на способность раковых клеток к пролиферации и миграции. Наши последние исследования продемонстрировали роль ГАФД в ответе опухолевых клеток на гипоксию. Мы установили, что фермент в ответ на гипоксию денатурирует, а денатурация фермента, в свою очередь, приводит к снижению жизнеспособности клеток и повышению чувствительности к противоопухолевым препаратам. Такие данные привели нас к мысли о том, что с точки зрения терапии онкологических заболеваний необходимо снижать устойчивость ГАФД к окислению и денатурации.

Таким образом, исследования, которые мы проводили в течение последних лет доказывают, что белок ГАФД является крайне перспективной мишенью для терапевтической интервенции как при нейродегенеративных, так и при онкологических заболеваниях.

Работа поддержана РНФ, проект №14-50-00068.

## ДИЗАЙН ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО ДИАГНОСТИЧЕСКОГО МАРКЕРА АКТИВНОЙ ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ ФОРМЫ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА

А. Каминская, Я. Ломакин, М. Захарова, Г. Телегин, А. Габибов, А. Белогуров

<sup>1</sup>*Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва;*

<sup>2</sup>*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань;*

<sup>3</sup>*Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино, Моск. обл.;*

<sup>4</sup>*Научный центр неврологии;*

<sup>5</sup>*Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва*

Рассеянный склероз (РС) является одним из наиболее социально значимых аутоиммунных заболеваний, широко распространенных по всему миру. Данное заболевание характеризуется хроническим воспалением, демиелинизацией, разрушением аксонов и олигодендроцитов за счет активации и миграции иммунных клеток в центральную нервную систему. Ранняя диагностика РС необходима для успешного его лечения. В последние десятилетия широко изучается феномен природных антител, обладающих каталитической активностью. Каталитические антитела или абзимы способны либо защищать организм, либо способствовать развитию аутоиммунных аномалий. Ранее мы показали, что миелин-реактивные аутоантитела у пациентов с рассеянным склерозом распознают и гидролизуют энцефалитогенный МВР-пептид 81-103, фланкированный двумя флуоресцентными белками, обозначенными EPeFRET (Encephalitogenic Peptide Fluorescence Resonance Energy Transfer). В данной работе мы разработали следующее поколение этого биомаркера для РС на основе опосредованной антителом деградации нового химически синтезированного FRET-субстрата, представляющего собой флуорофор Cy5 и гаситель QXL680, соединенного с помощью МВР-пептида 81-99 – Cy5-МВР81-99-QXL680. Данный субстрат деградирует во время инкубации с антителами мышей с экспериментальным аутоиммунным энцефаломиелитом и антителами пациентов с РС, в то время как деградации данного субстрата при инкубации с антителами неиммунизированных мышей и здоровых доноров мы не наблюдали. Анализ скорости увеличения флуоресценции выявил статистически значимую разницу между скоростью гидролиза Cy5-МВР81-99-QXL680 IgG, выделенных у пациентов с активно прогрессирующей формой РС, по сравнению с таковой у пациентов с активной не прогрессирующей формой РС и здоровыми донорами. Таким образом, флуоресцентный биосенсор Cy5-МВР81-99-QXL680 может быть целенаправленно использован в качестве предикативного биомаркера перехода РС в активный прогрессирующий фенотип, дифференцируя тем самым развивающийся активный прогрессирующий фенотип РС от долговременного активного не прогрессирующего фенотипа.

Работа поддержана РНФ, проект № 17-74-30019.

## ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ КОМПОНЕНТОВ УБИКВИТИН-ПРОТЕАСОМНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ РЕПРОГРАММИРОВАНИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ КЛЕТОК МЛЕКОПИТАЮЩИХ

А. Селенина<sup>1</sup>, Е. Бахмет<sup>1</sup>, А. Газизова<sup>1,2</sup>, С. Синенко<sup>1,3</sup>, У. Зайферт<sup>4</sup>, А. Томили<sup>1,2</sup>, А. Цимоха<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;*

<sup>2</sup>*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург;*

<sup>3</sup>*Петербургский институт ядерной физики, Гатчина, Ленинградская область;*

<sup>4</sup>*Университет Грайфсвальда, Грайфсвальд, Германия*

Убиквитин-протеасомная система играет важную роль в поддержании белкового гомеостаза и в регуляции множества клеточных процессов. Протеасома представляет собой мульти субъединичный протеазный комплекс, содержащий коровую 20S частицу и 19S регуляторные частицы. При определенных условиях, конститутивные субъединицы 20S –  $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 5$  могут быть замещены особыми частицами  $\beta 1i/LMP2$ ,  $\beta 2i/MECL-1$  and  $\beta 5i/LMP7$ . В таком случае протеасома становится иммунопротеасомой (ИП) и участвует в процессе презентации антигена. Существует также дополнительный регулятор протеасомы и ИП -  $PA28\alpha/\beta$ . Известно, что наблюдается увеличение экспрессии субъединиц ИП в ЭСК человека (эмбриональных стволовых клетках), тогда как экспрессия этих субъединиц падает во время их дифференцировки. Кроме того, ингибирование этих субъединиц снижает экспрессию генов, связанных с плюрипотентностью, и увеличивает экспрессию генов, связанных с дифференцировкой. Эти наблюдения предполагают, что ИП участвуют в регуляции плюрипотентности и дифференциации плюрипотентных клеток. Другой интригующий вопрос касается возможной роли ИП в индукции клеточной плюрипотентности. Кроме того, неизвестно, как ИП участвуют в поддержании наивной и праймированной плюрипотентности ЭСК и человека, и мыши. Работа посвящена изучению поддержания белкового гомеостаза в плюрипотентных клетках мыши с помощью убиквитин-протеасомной системы. Мы показали, что в течение всего процесса репрограммирования под действием ингибитора LMP7 - PR-957 и ингибитора протеасом MG-132 наблюдается заметное снижение образования клонов ИПСК (индуцированных плюрипотентных стволовых клеток). Анализ репрограммирования клеток полученных из нокаутных эмбрионов по MECL-1, LMP7 и  $PA28\alpha/\beta$ , также показал сильное снижение в образовании клонов ИПСК, что свидетельствует об участии протеасом, иммунопротеасом и регуляторной частицы PA28 в процессе репрограммирования и получении ИПСК. Также мы обнаружили, что синтез иммунопротеасом в ПСК мыши начинается при дифференцировке наивных клеток в праймированные с 5 суток, что может указывать на роль данных комплексов в «поздних» плюрипотентных клетках.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-50-00068.

## МАСТЕР-РЕГУЛЯТОРНЫЕ БЕЛКИ И ГЕНЫ РАЗВИТИЯ И КАНЦЕРОГЕНЕЗА НА ПРИМЕРЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

И.В. Алексеенко<sup>1</sup>, Т.В. Виноградова<sup>1</sup>, Д.А. Дидыч<sup>1</sup>, М.В. Зиновьева<sup>1</sup>, Л.Г. Кондратьева<sup>1</sup>, Е.П. Копанцев<sup>1</sup>, М.Б. Костина<sup>1</sup>, А.И. Кузьмич<sup>1</sup>, Г.С. Монастырская<sup>1</sup>, В.В. Плешкан<sup>1</sup>, Е.Д. Свердлов<sup>1</sup>, Д.В. Антонова<sup>1</sup>, И.П. Чернов<sup>1</sup>, Д.А. Гнатенко<sup>1</sup>, В.И. Егоров<sup>2</sup>, М.Р. Копанцева<sup>3</sup>, О.В. Мелехина<sup>4</sup>, Р.А. Полтавцева<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва;

<sup>2</sup>Городская клиническая больница № 5 ДЗ, Москва;

<sup>3</sup>Институт хирургии им. А.В. Вишневского Минздрава России, Москва;

<sup>4</sup>Московский клинический научный центр имени А.С. Логина, Москва;

<sup>5</sup>Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени акад. В.И. Кулакова Минздрава России, Москва

Собраны образцы фетальной (ФПЖ), нормальной (НПЖ) и пораженной раком поджелудочной железы (РПЖ), выделена м-РНК, синтезированы кДНК и определены уровни экспрессии генов мастер регуляторов развития ПЖ *PDX1*, *PTF1A*, *SOX9*, *HNFB1b*, *GATA4*, *KLF5*, и *ZEB1*.

По сравнению с НПЖ экспрессия *SOX9*, *GATA4*, *PDX1*, *PTF1a*, повышена в ФПЖ, в РПЖ экспрессия *PTF1a*, понижена, экспрессия *GATA4* и *HNFB1b* равна, экспрессия *PDX1* понижена или равна, экспрессия *SOX9* повышена, понижена или равна, экспрессия *KLF5* и *ZEB1* значительно увеличена. Обнаружена положительная корреляция уровней экспрессии *KLF5* и *ZEB1*, и *SOX9* и *PDX1* в РПЖ.

Чтобы вычлени роль мастер генов в собственно раковых клетках мы исследовали уровень транскрипции и трансляции в пяти линиях клеток РПЖ, отличающихся по степени «злокачественности». Эти клетки отличаются эпигенетическими модификациями регуляторов и экспрессией мастер генов. Сравнение экспрессии мастер генов в клинических образцах и в исследованных линиях клеток показывает только частичную корреляцию. В частности, по нашим данным существует негативная корреляция генов *KLF5* и *ZEB1* в клетках, свидетельствующая об их антагонистической роли в РПЖ. Это противоречит вышеупомянутой позитивной корреляции экспрессии этих генов в РПЖ. Подобное же несоответствие наблюдается и для *PDX1* и *SOX9*. Т.о. клетки не отражают поведение целой опухоли, по-видимому, вследствие влияния гетерогенности раковых клеток и стромального компонента, который в случае РПЖ очень велик.

Использование клеточных линий может быть особо информативными для изучения процессов метастазирования. Клетки PANC1 трансдуцированные *PDX1* использованы для анализа опухолевых свойств в экспериментах по ксенотрансплантации в эмбрионах *Danio rerio* (совместно с ИМГ РАН). Показано, что повышенная экспрессия *PDX1* приводит к подавлению метастазирования. Нокдаун *SOX9* с помощью siRNA, изменяет уровень транскрипционных факторов – *SNAIL*, *SLUG*, и *HES1*, выявляя его участие в их регуляции в клетках РПЖ.

Наши результаты на клеточных линиях и на клинических образцах выдвигают ген и белок *KLF5* в качестве перспективной мишени для терапии РПЖ.

Выдвинута концепция терапии рака, нацеленной не на раковые клетки, а на ингибирование взаимодействий раковых и стромальных компонентов опухоли.

Исследование выполнено за счет гранта РФФИ, проект № 14-50-00131.

# СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ - ОСНОВА КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Н.Н. Никольский

*Институт Цитологии РАН, Санкт-Петербург*

В настоящее время в научных кругах и средствах массовой информации широко обсуждаются технологии 3D биопринтинга органов и тканей человека. Значительное внимание уделяется разработке систем печати, созданию скаффолдов, а клеточный материал рассматривается как существующая данность. Предполагается, что клеточный материал должен быть представлен в значительных количествах, что может быть обеспечено только за счет культивирования клеток *in vitro*. Молчаливо подразумевается, что такой клеточный материал должен быть более-менее однородным и воспроизводимым. С другой стороны, нагнетаются опасения, что стволовые клетки в культуре могут подвергаться злокачественному перерождению. Для решения возникающих противоречий необходимо детальное исследование поведения культур стволовых клеток. В процессе выполнения проекта по направлению «Стволовые клетки – основа клеточных технологий» были исследованы свойства культивируемых эмбриональных стволовых клеток человека, фибробластов и мезенхимных стволовых клеток разных тканей, в том числе эндометрия (эмСК) человека. Показано, что в сравнении с другими культурами мезенхимных стволовых клеток человека, эмСК обладают повышенным пролиферативным потенциалом и являются одним из наиболее удобных и выгодных объектов для фундаментальных и прикладных исследований. Методами классического кариотипирования, молекулярного кариотипирования и полнотранскриптомного анализа показано, что клетки в процессе культивирования, а также под воздействием разных стрессовых воздействий (окислительный, тепловой, генотоксический стресс), не подвергаются трансформации и не обнаруживают признаков онкогенности. Установлено, что стрессовые воздействия индуцируют преждевременное старение эмСК. В ходе выполнения проекта были проведены исследования по оценке эффективности терапевтического использования эмСК для борьбы с бесплодием. Эксперименты по трансплантации суспензии клеток, а также клеточных сфероидов, показали, что трансплантация эмСК человека позволяет преодолеть бесплодие экспериментальных животных, вызванное синдромом Ашермана. Научные результаты, полученные по данному направлению проекта, представлены также в докладах сотрудников Института цитологии РАН А.Н. Томилина, А.В. Селениной, Т.Ю. Старковой, Н.А. Михайловой, М.Г. Хотина, Н.М. Юдинцевой, Е.С. Корниловой, О.Г. Люблинской.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-50-00068.

## ШАПЕРОННЫЕ ЛЕКАРСТВА ДЛЯ ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ И НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ

И. Гужова<sup>1</sup>, Е. Дутышева<sup>1</sup>, В. Карцев<sup>2</sup>, Л. Колударова<sup>1</sup>, Е. Комарова<sup>1</sup>, В. Лазарев<sup>1</sup>, Д. Мешалкина<sup>1</sup>, Е. Михайлова<sup>1</sup>, А. Никотина<sup>1</sup>, Д. Сверчинский<sup>1</sup>, Р. Суезов<sup>1</sup>, М. Шевцов<sup>1</sup>, Б. Маргулис<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург;*

<sup>2</sup>*ООО ИнтерБиоСкрин, Черноголовка, Моск. обл*

Молекулярные шапероны, в частности Hsp70 (БТШ70) являются ключевыми регуляторами белкового гомеостаза клетки; они поддерживают полипептиды в активной, растворимой форме и исправляют структуру поврежденных белков. На шаперонной активности БТШ70 основана его защитная функция, которая уже используется в терапевтических целях при лечении сердечно-сосудистых заболеваний и которая, напротив составляет препятствие для онкологической терапии. Одной из целей наших исследований был поиск веществ, способных подавить синтез шаперонов через ингибирование фактора теплового шока HSF1 или снизить шаперонную активность самого БТШ70 в раковых клетках. Проводя скрининги химических соединений с помощью модифицированных тест-систем, мы выявили несколько веществ, способных снижать уровень синтеза БТШ70 или его шаперонную функцию. Поскольку большинство шаперонных ингибиторов высоко токсичны, мы сосредоточились на поиске наименее токсичных соединений; второй целью данного исследования было найти вещества, способные функционировать в комбинации с известными противоопухолевыми лекарствами и таким образом снизить их побочные эффекты. Два выявленных ингибитора шаперона БТШ70 способны в комбинации с доксорубицином снижать пролиферацию опухолевых клеток разного происхождения и в опытах с животными увеличивать продолжительность их жизни на 20-30%. Одним из интересных свойств ингибиторов БТШ70 стал эффект диссоциации регуляторных молекул апоптоза, в частности каспазы 3 от БТШ70; по нашему мнению механизм такого аффинного разделения можно использовать в дизайне новых лекарственных средств.

Работа поддержана РНФ, проект №14-50-00068.



# ДИНАМИКА ГЛИКОЛИПИДОВ В КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАНАХ И МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ

Н.В. Бовин, В.А. Олейников, Р.Г. Ефремов

*Институт биоорганической химии им. М.М. Шенякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва*

В докладе освещены четыре поднаправления данной тематики.

1. *Моделирование гликокаликса методами химической биологии.* Синтезированы гликолипиды, хорошо заякоривающиеся в биологические мембраны, а также формирующие мембрано-подобные монослои на поверхностях. Существенной особенностью этих гликолипидов является конформационно жесткая спейсерная группа, длиной до 15 нм, позволяющая загружать в гликокаликс на нужное расстояние от мембраны.
2. *Молекулярная динамика и иммунохимические свойства гликолипидов Gb3.* Эритроциты и эндотелиальные клетки человека имеют гликолипид Gb3, в которых керамид непосредственно соединен с гликаном Gal $\alpha$ 1-4Gal $\beta$ 1-4Glc. В то же время, в крови человека обнаруживается высокий уровень естественных антител к этому гликану. С помощью сочетания молекулярно-динамического моделирования и синтеза аналогов Gb3, мы объяснили толерантность антител к природному Gb3 в составе клеточной мембраны.
3. *Физ-хим. и молекулярно-динамические свойства супрамеров biot-CMG-DOPE.* Эта молекула интересна тем, что с ее помощью можно в течение минут биотинилировать клетки или неживые поверхности. Изучение с помощью АСМ, ТЭМ, ДСР и др. методов, а также молекулярно-динамическое моделирование мицелло-подобных везикул и плоских монослоев показало, что всего лишь 1% остатков биотина выходит на периферию слоя, однако этого достаточно для взаимодействия со Str.
4. *Моделирование перемещения гликолипидов между клетками.* Представлены первые результаты по переносу синтетических гликолипидов между эукариотическими клетками, а также с эукариотических на бактериальные клетки.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-50-00131.

## БИОКОНВЕРСИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

А.П. Сеницын<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва;*

<sup>2</sup>*ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва*

Разработан и масштабирован до пилотного уровня процесс конверсии лигноцеллюлозной биомассы (ЛЦБ) в ферментируемые С5 и С6 сахара. В качестве сырья использованы хвойные и лиственные опилки. Технологическая схема пилотного линии включает стадии механической и химической предобработки ЛЦБ, что позволяет в 4 раза увеличить реакционную её способность (С5 сахара образуются преимущественно на стадии химической предобработки, более 90% от общего выхода ксилозы достигается на этой стадии, что позволяет разделить потоки С5 и С6 сахаров); ферментативного гидролиза предобработанной ЛЦБ до С6 сахаров (глубина ферментативной конверсии ЛЦБ составила >55% от сухой массы сырья, длительность процесса ферментативного гидролиза –16-36 часов, концентрация глюкозы после завершения процесса ферментативного гидролиза составила >60 г/л при начальной концентрации ЛЦБ в реакционной смеси 100 г/л); концентрирования С5 и С6 сахаров с помощью упаривания в вакууме; получения ферментов в виде культуральной жидкости или ультра-концентрата.

## РОЛЬ АУТОФАГИИ В РЕГУЛЯЦИИ ПЛЮРИПОТЕНТНОГО СОСТОЯНИЯ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

И.И. Суворова, В.А. Поспелов

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург*

Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) могут неограниченно делиться *in vitro*, сохраняя недифференцированное состояние, хотя свойство плюрипотентности является временным состоянием *in vivo*. Однако условия культивирования, поддерживающие самообновление и плюрипотентность ЭСК, до сих пор не являются оптимальными. Аутофагия является ключевым катаболическим процессом, который позволяет осуществлять самообновление клеточных компонентов в ответ на различные стимулы посредством лизосомального аппарата. В настоящее время изучение аутофагии начинает занимать лидирующее положение в области исследования фундаментальных свойств как опухолевых, так стволовых клеток, так как вовлеченность аутофагии в поддержание жизнеспособности опухолевых клеток, плюрипотентности и самообновления ЭСК создает новый уровень контроля их жизнедеятельности. Поэтому существует необходимость в создании новых подходов для решения этих фундаментальных вопросов. Таким образом, настоящий проект направлен, в том числе, на изучение аутофагии в ЭСК как ключевого механизма, сохраняющего их недифференцированное состояние в культуре.

Работа поддержана РФФ, проект № 14-50-00068.

## ГЕНЫ, ИСЧЕЗНУВШИЕ В ЭВОЛЮЦИИ, КАК РЕГУЛЯТОРЫ РАЗВИТИЯ МОЗГА И РЕГЕНЕРАЦИИ

А.В. Байрамов, Г.В. Ермакова, Ф.М. Ерошкин, А.С. Иванова, Н.Ю. Мартынова, М.Б. Терёшина, А.Г. Зарайский

*Институт биоорганической химии им. М.М. Шенякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва*

Изучение молекулярных механизмов регенерации и раннего развития головного мозга – одни из важнейших проблем современной биологии. Хорошо известно, что способность к регенерации конечностей существенно понижена у высших позвоночных (птицы и млекопитающие) по сравнению с низшими (рыбы, амфибии, рептилии). При этом высшие позвоночные также отличаются от низших существенно более развитым головным мозгом. Ранее мы показали, что данные различия могут объясняться потерей в ходе эволюции предками современных высших позвоночных ряда генов, регулирующих регенерацию и развитие мозга у низших позвоночных. Очевидно, что изучение функций этих генов является крайне важной задачей, решение которой может способствовать пониманию причин потери регенерационных способностей и усиленного развития мозга у высших позвоночных, в том числе у человека. В ходе настоящего проекта с помощью различных методов молекулярной биологии и биологии развития мы изучили механизмы функционирования генов *Ag1*, *Ras-dva1*, *Ras-dva2* и *Noggin4* в ходе регенерации и раннего развития головного мозга на двух модельных объектах, представителях низших позвоночных – эмбрионах шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* и рыбе *Danio rerio*. В результате были получены данные о сигнальных каскадах, регулируемых данными генами, а так же данные, подтверждающие важную роль этих генов в регуляции регенерации конечностей и в раннем развитии мозга у низших позвоночных.

Работа поддержана РФФ, проект № 14-50-00131 и РФФИ, проект № 17-04-01524 А.

## СТРУКТУРА И МЕХАНИЗМЫ АКТИВАЦИИ РЕЦЕПТОРНЫХ ТИРОЗИНКИНАЗ

А.Г. Петренко

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

Рецепторные тирозинкиназы (РТК) играют ключевую роль в межклеточной передаче сигнала и регулируют важнейшие процессы жизнедеятельности клеток - пролиферацию, дифференцировку, миграцию, апоптоз и злокачественные перерождения.

В рамках направления «Рецепторные и сигнальные белки. Анализ структуры и функции» проводились исследования РТК с использованием комбинации структурных и функциональных подходов. Изучена структура и механизм активации рецептора, подобного рецептору инсулина - (ИРР), являющегося рН-активируемой РТК, при помощи мутагенеза, моноклональных антител и МУРР анализа. Предложена двуцентровая модель активации ИРР. С помощью гетероядерной ЯМР-спектроскопии высокого разрешения исследованы мембранные фрагменты рецепторов нейротрофинов, эпидермальных факторов роста и гормона роста человека в мембраноподобных средах. Выявлены структурные детерминанты специфической димеризации трансмембранных доменов и построены конформационно-динамические модели функционирования РТК. Предложен липид-опосредованный механизм передачи сигнала через мембрану клетки. Показана возможность альтернативных согласованных белок-белковых и белок-липидных взаимодействий для структурных доменов РТК в ответ на связывание различных лигандов. Впервые предложено использовать кардиотоксины из яда змей в качестве природных модификаторов состояния липидного бислоя клеточных мембран, что может критическим образом сказаться на функционировании мембранных рецепторов, включая РТК.

С использованием нокаутных мышей выявлены сигнальные партнеры ИРР, в частности рН-чувствительный калиевый канал TASK2 и фосфолипаза С гамма 2. Показано, что в представителях низших позвоночных – эмбрионах шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*, подавление экспрессии ИРР приводит к задержке развития эмбрионов. Также в лягушках и рыбе *Danio rerio* получены данные о сигнальных каскадах, регулируемых генами *Ag1*, *Ras-dva1*, *Ras-dva2* и *Noggin4* и открыта их важная роль в регуляции регенерации конечностей и в раннем развитии мозга у низших позвоночных.

Работа поддержана РФФ, проект № 14-50-00131.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ И КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ ДЛЯ РЕКОНСТРУКЦИИ ОРГАНОВ МОЧЕВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Н. Юдинцева<sup>1</sup>, Ю. Нашекина<sup>1</sup>, М. Блинова<sup>1</sup>, М. Шевцов<sup>1</sup>, А. Муравьев<sup>2</sup>, Н. Орлова<sup>2</sup>, Т. Виноградова<sup>2</sup>, А. Горелова<sup>2</sup>, М. Шейхов<sup>2</sup>, А. Горелов<sup>3</sup>, И. Самусенко<sup>4</sup>, Б. Николаев<sup>5</sup>, Л. Яковлева<sup>5</sup>, Н. Михайлова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт цитологии РАН;*

<sup>2</sup>*Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии, Санкт-Петербург;*

<sup>3</sup>*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург;*

<sup>4</sup>*Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России, Санкт-Петербург;*

<sup>5</sup>*Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов ФМБА России, Санкт-Петербург*

За последние годы возрос интерес урологов к использованию методов тканевой инженерии и клеточной терапии при лечении патологий органов мочевыводящего тракта, при которых требуется их замещение, а в качестве заместительных материалов используют ткани желудочно-кишечного тракта и различные ткани организма. Недостатками данного подхода являются послеоперационные осложнения, дефицит тканей для пластики, увеличение времени операции в связи с необходимостью получения лоскута пациента.

Целью работы было исследование эффективности применения тканеинженерных конструкций (ТИК) для восстановления поврежденной ткани мочевого пузыря (МП) и уретры, а также оценка эффективности клеточной терапии в экспериментальной модели туберкулезного поражения МП кроликов породы Шиншилла.

Для реконструкции ткани МП и уретры были приготовлены различные ТИК на основе двуслойных полимерных скаффолдов, заселенные аллогенными мезенхимными стволовыми клетками (МСК) костного мозга кролика. Введение в состав МСК суперпарамагнитных наночастиц оксида железа позволило выявить локализацию клеток в реконструируемой ткани. ТИК имплантировали на модели парциальной резекции МП и дефекта дорзальной поверхности уретры кроликов. Клеточную терапию применяли в комплексе со стандартной противотуберкулезной терапией, при этом суспензию меченных МСК инъецировали под слизистую оболочку патологически измененной стенки МП.

Оценку результатов применения ТИК и клеточной терапии производили через 4, 8 и 12 недель после операции. После выведения животных из эксперимента был выполнен гистологический и иммуногистохимический анализы, а также приготовлены криосрезы тканей.

Меченные наночастицами клетки были обнаружены в различных слоях реконструированных тканей, что убедительно демонстрирует их активное участие в процессе восстановления. Разработанные ТИК с аллогенными МСК способствовали эффективному восстановлению поврежденной ткани МП и уретры, что является особенно важным для лечения патологий, при которых получение аутологичного материала не представляется возможным. Комплексное применение стандартной противотуберкулезной и клеточной терапии оказывало эффективное влияние на репарационные процессы в тканях МП.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-50-00068.

## НОВЫЕ ГЕНОМНЫЕ ДЕТЕРМИНАНТЫ ДЫХАТЕЛЬНОГО МЕТАБОЛИЗМА У ЭКСТРЕМОФИЛЬНЫХ АРХЕЙ

С.Н. Гаврилов<sup>1</sup>, А.И. Слободкин<sup>1</sup>, Д.Ю. Сорокин<sup>1</sup>, И.М. Елизаров<sup>1</sup>, А.В. Марданов<sup>2</sup>, О.В. Гольшина<sup>3</sup>, С.В. Тоцаков<sup>1,4</sup>, И.В. Кубланов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва;

<sup>2</sup>Институт биоинженерии ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва;

<sup>3</sup>Университет Бангора, Великобритания;

<sup>4</sup>БФУ им. И. Канта, Калининград

Археи – один из двух доменов жизни, восходящих к последнему общему предку всех прокариот (LUCA). Археи широко распространены во многих экотопах, а в экстремальных местах обитания они зачастую доминируют. Таким образом, экстремофильные археи могут обладать как наиболее древними, так и наиболее устойчивыми формами ферментов, детерминирующих ключевые процессы клеточного метаболизма.

В нашей работе рассмотрены новые детерминанты анаэробного и аэробного дыхания, обнаруженные в геномах различных экстремофильных архей, а именно: мультигемовые оксидоредуктазы гипертермофильных железоредукторов родов *Geoglobus* и *Pyrobaculum*, молибдоптеринозные полисульфидредуктазы экстремального галофила *Halanaeroarchaeum sulfurireducens*, кислородредуктазы гиперацидофила *Cuniculiplasma divulgatum* и его предполагаемого наноархейного симбионта. В частности, нам впервые удалось обнаружить гены поверхностных мультигемовых цитохромов *c* у архей. Несколько новых оксидоредуктаз этого класса было выявлено в геномах *P. ferrireducens*, *P. arsenaticum* 2319x2 и облигатного железоредуктора *G. acetivorans*. Первые две археи содержали гомологи железоредуктаз мезофильных бактерий, тогда как в последнем случае цитохромы не имели охарактеризованных гомологов, но их взаимодействие с нерастворимым оксидом Fe(III) было нами подтверждено биохимически. Таким образом, было установлено, что экстремофильные археи, и, в частности, гипертермофилы, обладают механизмами внеклеточного переноса электронов на нерастворимые акцепторы, а значит, могут быть использованы для продукции электричества в микробных топливных элементах из широкого спектра сбраживаемых и несбраживаемых субстратов.

Работа поддержана грантом РФФ № 17-74-30025.

## СТАРЕНИЕ ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА: ХАРАКТЕРНЫЕ ПРИЗНАКИ И ВОЗМОЖНЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ

А.В. Бородкина, А.А. Грюкова, П.И. Дерябин, Е.Б. Бурова, А.Н. Шатрова, Н.Н. Никольский

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург*

Эндометрий человека представляет собой динамическую ткань, которая претерпевает около 400 циклов роста, обновления, дифференцировки и отслаивания в течение репродуктивной жизни женщины. Циклическое восстановление ткани эндометрия осуществляется за счет пролиферации резидентных эндометриальных стромальных клеток. Работа нашей группы направлена на изучение молекулярных основ и последствий преждевременного старения эндометриальных стромальных клеток человека (эСК).

В первую очередь мы исследовали внутриклеточные изменения, сопровождающие преждевременное старение эСК. Оказалось, что стареющие эСК демонстрировали все наиболее характерные признаки клеточного старения, включая формирование DNA-SCARS, активацию ответа на повреждение ДНК, p53/p21/Rb-опосредованный блок клеточного цикла, необратимую остановку пролиферации, клеточную гипертрофию и модуляцию белкового синтеза, нарушение функционирования систем деградации и повышение активности SA- $\beta$ -Gal, нарушение функционирования митохондрий и повышенный уровень активных форм кислорода. Кроме того, оказалось, что преждевременное старение приводило к существенному снижению миграционной способности и нарушению адипогенной и остеогенной дифференцировки эСК. Необходимо подчеркнуть, что старение эСК негативно влияло на их тканеспецифичную децидуальную дифференцировку, которая обуславливает успешность имплантации и последующее нормальное развитие эмбриона.

Помимо описанных выше внутриклеточных изменений при помощи жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии высокого разрешения мы продемонстрировали существенное изменение профиля секретуемых стареющими клетками факторов. Оказалось, что факторы, секретуемые стареющими эСК, с одной стороны, опосредуют распространение старения в клеточной популяции, а, с другой стороны, приводят к нарушению децидуальной дифференцировки нормальных клеток. На основании данных биоинформатического анализа в качестве ключевого компонента нами был выбран белок PAI-1, который может быть ответственен за негативное влияние секрета стареющих клеток на клетки микроокружения. Для подтверждения функциональной роли данного белка в секрете стареющих эСК при помощи CRISPR/Cas9 технологии были получены линии эСК, нокаутные и оверэкспрессирующие PAI-1.

Работа поддержана РНФ, проект № 14-50-00068.



# ПРИМЕНЕНИЕ ХИМЕРНЫХ АНТИГЕННЫХ РЕЦЕПТОРОВ Т-КЛЕТОК СЛИТНЫХ С ЛИГАНДАМИ В- И Т-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ДЛЯ ТЕРАПИИ ЛЕЙКЕМИИ И ЛИМФОМЫ

А.В. Степанов, Р.С. Калинин, А.А. Белогуров, А.Г. Габитов

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

Введение Т-клеток, модифицированных химерными антигенными рецепторами (CAR), является одним из наиболее активно развивающихся направлений иммуноонкологии. За последнее десятилетие данная область клеточной терапии совершила значительный скачок от оптимизации структуры химерных антигенных рецепторов и экспериментов на модельных животных до успешного клинического применения. Изначальный вектор развития CAR был направлен в сторону увеличения активации, цитотоксичности и персистенции модифицированных Т-клеток. Однако, первые же попытки клеточной терапии больных продемонстрировали необходимость создания более безопасных CAR Т-клеток. Основным недостатком существующих CAR является низкая селективность и повреждение здоровых тканей и органов. Поэтому поиск более специфических маркеров патологических лимфоцитов для направленной терапии представляется крайне актуальной задачей. Для лимфопролиферативных опухолевых заболеваний характерной особенностью является моноклональная экспансия патологического лимфоцита. Каждый опухолевый клон несет на своей поверхности антиген-распознающий иммуноглобулин, который отличает его от всех остальных клеток организма. Идентификация лигандов BCR и TCR лимфомных и лейкозных клеток позволит специфически элиминировать патологические лимфоциты не уничтожая здоровые клетки. Для реализации поставленной задачи у пациентов с диагнозами лейкемия и лимфома были изолированы опухолевые клетки. После определения нуклеотидных последовательностей, кодирующих гены переменных доменов иммуноглобулинов, с помощью методов фагового дисплея или аутокринной селекции репортерных клеток были идентифицированы специфических лиганды злокачественных Т- и В- клеток. Включение отобранных распознающих лигандов в состав химерных антигенных рецепторов позволило получить безопасные опухолеспецифичные CAR Т-клетки, которые эффективно подавляли раковые клетки *in vitro*, *ex vivo* и *in vivo*. Данный подход позволит снизить риски осложнений ассоциированных с применением CART, а также повысит безопасность клеточной терапии, что позволит одобрить ее применение на более ранних стадиях заболевания.

Работа поддержана РНФ, проект № 17-74-30019.

## ЛИНКЕРНЫЕ БЕЛКИ H1 И HMGV1 В ХРОМАТИНЕ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК МЫШИ

Т. Старкова<sup>1</sup>, Т. Артамонова<sup>3</sup>, Е. Чихиржина<sup>1</sup>, М. Ходорковский<sup>3</sup>, А. Томилин<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии  
РАН, Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург;

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский государственный политехнический университет имени Петра  
Великого, Санкт-Петербург

С помощью FT(ICR)MS нами выявлены функционально значимые ЭСК-специфические различия в модификационном статусе «линкерных» белков HmgV1 и H1 ЭСК и дифференцированных клеток мыши. Показано увеличение степени ацетилирования H1.0 и H1.2 в ЭСК в области С-концевых доменов, участвующих в стабилизации конденсированного хроматина. При этом, уровень экспрессии H1.0 и H1.2 в ЭСК заметно ниже, что приводит к снижению тотального количества H1 в ЭСК. Это обстоятельство совместно с ослаблением ДНК-H1 взаимодействия в силу уменьшения положительного заряда N- и С-концевых областей белков H1 в ходе ацетилирования могут приводить к образованию «рыхлой» структуры хроматина, что характерно для стволовых клеток.

Показано, что «линкерный» белок HmgV1 ЭСК характеризуется наличием acK2 и deacK81 в области между HmgV-доменами, что согласно литературным данным, приводит к потере его способности изгибать ДНК при взаимодействии и преимущественному связыванию HmgV1 на концах макромолекулы. Это должно вносить изменения в особенности функционирования белка в хроматине ЭСК.

Показано, что уровень экспрессии HmgV1 в ЭСК, на порядок выше по сравнению с хроматином дифференцированных клеток, однако, CRISPR/Cas9-опосредованный нокаут HmgV1 не летален для клеток. Напротив, наблюдается увеличение скорости пролиферации HmgV1<sup>-/-</sup> ЭСК по сравнению с клетками дикого типа. Нокаут HmgV1; HmgV2 генов одновременно, так же не приводит к летальному исходу, однако, находит свое проявление в виде некоторой задержки в процессе дифференцировки HmgV1<sup>-/-</sup>; HmgV2<sup>-/-</sup> ЭСК in vitro в эпибластные стволовые EpiSC клетки. В докладе будут рассмотрены особенности дифференцировки HmgV1<sup>-/-</sup> и HmgV1<sup>-/-</sup>;HmgV2<sup>-/-</sup> ЭСК в клетки трех зародышевых листков in vitro и in vivo.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ № 14-50-00068 и РФФИ № 18-04-01199 с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр нано- и биотехнологий «СПбГПУ».

ОСОБЕННОСТИ ПРЕЗЕНТАЦИИ МИЕЛИНОВЫХ АУТОАНТИГЕНОВ НА  
КОМПЛЕКСАХ ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ ВТОРОГО КЛАССА,  
КАТАЛИЗИРУЕМОЙ HLA-DM

А. Мамедов<sup>1</sup>, М. Захарова<sup>1,2</sup>, О. Фаворова<sup>2</sup>, О. Кулакова<sup>2</sup>, А. Бойко<sup>2</sup>, В. Кнорре<sup>1</sup>, Н. Воробьева<sup>3</sup>, Е. Хурс<sup>4</sup>, И. Киселев<sup>2</sup>, Н. Баулина<sup>2</sup>, А. Габибов<sup>1,5</sup>, А. Белогуров<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>*Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва;*

<sup>2</sup>*Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва;*

<sup>3</sup>*Институт биологии гена РАН, Москва;*

<sup>4</sup>*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва;*

<sup>5</sup>*Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Москва*

Риск рассеянного склероза (РС) возрастает у лиц, несущих определенные варианты человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) класса II, тогда как некоторые из них могут иметь протективный эффект. Мы проанализировали распределение аллелей высоко полиморфного локуса HLA-DRB1 для более чем тысячи пациентов с РС и здоровых доноров русской принадлежности. Было показано, что носительство групп аллелей HLA-DRB1\*15 и HLA-DRB1\*03 связано с риском РС, в то время как носительство групп аллелей HLA-DRB1\*01 и HLA-DRB1\*11 является протективным. Анализ генотипов показал компенсаторный эффект аллелей риска и резистентных аллелей в *транс*. Определение антигенной специфичности рекомбинантной молекулы HLA-DRB1\*01:01 продемонстрировало способность этого HLA распознавать фрагменты основного белка миелина (MBP), одного из аутоантигенов при РС. HLA-DRB1\*01:01 связывал два фрагмента MBP, а именно энцефалитогенный MBP<sub>81-104</sub> и С-концевой MBP<sub>146-170</sub>, с аффинностью, сравнимой с классической антигенной детерминантой HLA-DRB1\*01:01 - пептидом 306-318 гемагглютинаина (HA) вируса гриппа. Определение кинетических параметров загрузки пептидов MBP и HA на HLA-DRB1\*01:01, катализируемой HLA-DM, выявило значительно более низкую скорость обмена CLIP на пептиды MBP. Мы предполагаем, что наблюдаемые протективные свойства группы аллелей HLA-DRB1\*01 могут быть непосредственно связаны со способностью HLA-DRB1\*01:01 кинетически различать пептиды экзогенной и эндогенной природы.

Данная работа поддержана грантом Российского научного фонда № 17-74-30019.

## ТАРГЕТНАЯ ЭЛИМИНАЦИЯ СТАРЕЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ПРИ ИНГИБИРОВАНИИ RAS-СИГНАЛЬНОГО ПУТИ

Е.Ю. Кочеткова, Г.И. Блинова, В.А. Поспелов, Т.В. Поспелова

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург*

Мутации малой ГТФазы Ras обнаруживаются примерно в 30% всех опухолей человека. Ras-опухоли относятся к числу наиболее агрессивных и не отвечающих на терапию, так как мутантный Ras обеспечивает толерантность таких опухолей к терапии. Современная стратегия борьбы с Ras-трансформированными клетками основана на применении киназных ингибиторов нижележащего Raf/MEK/ERK-каскада. Однако клетки восстанавливают жизнеспособность при действии киназного ингибитора MEK/ERK-пути PD0325901 за счет активации цитопротективной AMPK-регулируемой аутофагии, уничтожающей поврежденные в результате подавления фосфорилирования ERK1,2 митохондрии. Таким образом, необходимо разработать стратегию, которая позволит лишить аутофагию, возникающую в ответ на действие киназных ингибиторов, ее цитопротективных свойств. Ключевым негативным регулятором аутофагии является киназа mTOR (mammalian Target of Rapamycin), которая входит в число мишеней Ras/Raf/MEK/ERK-каскада. Также mTOR является регулятором клеточного старения, в стареющих клетках mTOR обладает конститутивно высокой, независимой от пула аминокислот и митогенных сигналов, активностью, снижающей интенсивность аутофагии. Следовательно, конститутивно высокая активность mTOR может быть фактором, лишаящим аутофагию ее цитопротективных свойств и вызывающим гибель Ras-клеток при действии киназных ингибиторов. Нами был применен ингибитор деацетилаз гистонов бутират натрия (NaBut), индуцирующий старение Ras-экспрессирующих клеток. Применение NaBut отменяет толерантность к MEK/ERK ингибитору и вызывает клеточную гибель. Индуцированные к старению клетки не способны элиминировать поврежденные в результате подавления MEK/ERK митохондрии, так как они не развивают полноценный аутофагический ответ. Это связано с формированием фенотипа старения, разобщающих слияние аутофагосом и лизосом в стареющих клетках, а также с перемещением онкогенного Ras с мембраны в цитозоль, что отменяет его антиапоптотические функции. Применение индукторов старения делает Ras-трансформированные клетки уникально чувствительными к ингибитору MEK/ERK-пути и, следовательно, представляет перспективную стратегию элиминации Ras-экспрессирующих опухолевых клеток.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-15-00068.

## УНИВЕРСАЛЬНЫЕ CART НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА БАРНАЗА-БАРСТАР ДЛЯ ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Р.С. Калинин, А.В. Степанов, С.М. Деев, А.Г. Габибов

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

Одним из наиболее перспективных направлений в терапии онкологических заболеваний является клеточная иммунотерапия с использованием Т-клеток, модифицированных химерными антигенными рецепторами (CART). CART терапия позволила добиться впечатляющих результатов в борьбе с гематологическими онкологическими заболеваниями. После введения пациенту, CART клетки активно пролифирируют, могут увеличивать свою популяцию в тысячу раз, а также заселяют лимфоидные органы. При возникновении осложнений, ассоциированных с неконтролируемой гиперактивацией и неспецифической цитотоксичностью, возникает высокий риск развития опасных для жизни побочных эффектов, в первую очередь, “цитокиновый шторм” и синдром лизиса опухоли. Поэтому сохранение возможности контролировать терапевтические клетки во время терапии в режиме реального времени является крайне актуальной задачей.

Одним из возможных подходов к регуляции активности CART может быть контроль над интенсивностью распознавания опухолевых антигенов CART. Для создания регулируемых CART нами была изменена основная парадигма адаптивной клеточной терапии, которая подразумевает непосредственный контакт опухолевой клетки и CART клетки. Новый подход заключается в применении третьего компонента, который является промежуточным звеном между раковыми и терапевтическими клетками. В состав молекулы-посредника входит домен, распознающий раковый антиген, и слитую с ним барназу (бактериальная РНКаза), которая специфически связывается со своим природным ингибитором - барстаром, экспонированном на CAR. Нами был получен набор молекул-посредников, где в качестве распознающего домена используется фрагмент антитела, либо дарпин, а также панель различных химерных антигенных рецепторов содержащих различные мутантные формы барстара и линкерные участки соединяющие барстар с сигнальными доменами. Было проведен анализ интенсивности гибридизации всех вариантов созданных химерных рецепторов с дарпин-барназой, специфичной к опухолевому антигену HER2neo. На основании полученных данных была выбрана наиболее успешная конфигурация химерного рецептора, которая будет использована в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Разрабатываемая регулируемая система позволит контролировать интенсивность Т-клеточного ответа с помощью дозирования молекул-посредников.

Работа выполнена при поддержке РФФ, грант № 17-74-30019.

## АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

---

- Алексеев И.В. 30  
Андрианова А.Г. 19  
Антонова Д.В. 30  
Арсеньев А.С. 18  
Артамонова Т. 42  
Байрамов А.В. 36  
Баландин С.В. 20  
Баулина Н. 43  
Бахмет Е. 29  
Белогуров А.А. 25, 28, 41, 43  
Беляева Т. 17  
Блинова М. 38, 44  
Бовин Н.В. 33  
Богданов И.В. 20  
Бойко А. 43  
Болосов И.А. 20  
Болт Я.В. 22  
Бородкина А.В. 40  
Бочаров Э.В. 18  
Бочарова О.В. 18  
Бубырев А.И. 22  
Бурова Е.Б. 40  
Виноградова Т.В. 30, 38  
Вольнский П.Е. 18  
Воробьева Н. 43  
Габибов А.Г. 12, 25, 28, 41, 43, 45  
Гаврилов С.Н. 39  
Газизова А. 29  
Гнатенко Д.А. 30  
Гольшина О.В. 39  
Гончарук С.А. 18  
Горелов А. 38  
Горелова А. 38  
Гороховатский А.Ю. 22  
Грюкова А.А. 40  
Гужова И.В. 27, 32  
Данилов Д.В. 19  
Дебабов В.Г. 16  
Деев С.М. 45  
Дерябин П.И. 40  
Дидыч Д.А. 30  
Дутьшева Е.А. 27, 32  
Егоров В.И. 30  
Елизаров И.М. 39  
Емельянова А.А. 20  
Ермакова Г.В. 36  
Ерошкин Ф.М. 36  
Ефремов Р.Г. 18, 33  
Завриев С.К. 20  
Зайферт У. 29  
Зарайкий А.Г. 36  
Захарова М.Ю. 19, 28, 43  
Зиновьева М.В. 30  
Зинченко А.А. 19  
Иванов В.Т. 13, 20  
Иванова А.С. 36  
Истомина М. 17  
Калашников А.А. 20  
Калиберда Е.Н. 19  
Калинин Р.С. 41, 45  
Каменцева Р. 17  
Каминская А. 28  
Карцев В. 32  
Киселев И. 43  
Кнорре В. 43  
Колударова Л. 32  
Комарова Е.Ю. 27, 32  
Кондратьева Л.Г. 30  
Копанцев Е.П. 30  
Копанцева М.Р. 30  
Корнилова Е. 17  
Костина М.Б. 30  
Котлобай А.А. 22  
Кочеткова Е.Ю. 44  
Кошеверова В. 17  
Кубланов И.В. 26, 39  
Куджаев А.М. 19  
Кузьмин Д.В. 20  
Кузьмич А.И. 30  
Кулакова О. 43  
Лазарев В.Ф. 27, 32  
Лесовой Д.М. 18  
Литвинов И. 17  
Ломакин Я.А. 25, 28  
Люблинская О.Г. 23  
Мамедов А. 43  
Маргграф М.Б. 20  
Маргулис Б.А. 27, 32  
Марданов А.В. 39  
Мартынова Н.Ю. 36  
Мелехина О.В. 30  
Мельникова Д.Н. 20  
Мешалкина Д. 32  
Микеладзе М.А. 27  
Минеев К.С. 18  
Митюшкина Т.Ю. 22

Михайлова Н.А. 15, 32, 38  
Мокрушина Ю.А. 19  
Монастырская Г.С. 30  
Муравьев А. 38  
Мяснянко И. 22  
Надеждин К.Д. 18  
Назаров А.С. 19  
Нащекина Ю. 38  
Николаев Б. 38  
Никольский Н.Н. 31, 40  
Никотина А. 32  
Овчинникова Т.В. 20  
Олейников В.А. 33  
Орлова Н. 38  
Палкина К.А. 22  
Пантелеев П.В. 20  
Петренко А.Г. 37  
Петушков В.Н. 22  
Пипия С.О. 19  
Плешкан В.В. 30  
Полтавцева Р.А. 30  
Поспелов В.А. 35, 44  
Поспелова Т.В. 44  
Равин Н.В. 21  
Рогожин Е.А. 20  
Роганова Т.В. 19  
Румш Л.Д. 19  
Салова А. 17  
Самусенко И. 38  
Свердлов Е.Д. 30  
Сверчинский Д. 32  
Селенина А. 29  
Семенов О. 17  
Синенко С. 29  
Синицын А.П. 34

Слободкин А.И. 39  
Смирнов И.В. 19  
Соловьева В.А. 22  
Сорокин Д.Ю. 39  
Старкова Т. 42  
Степанов А.В. 41, 45  
Суворова И.И. 35  
Суезов Р. 32  
Суханов С.В. 20  
Сычев С.В. 20  
Тагаев А.А. 20  
Телегин Г. 28  
Терехов С.С. 19  
Терешина М.Б. 36  
Томилин А.Н. 14, 29, 42  
Тощак С.В. 39  
Урбан А.С. 18  
Фаворова О. 43  
Финкина Е.И. 20  
Харченко М. 17  
Ходорковский М. 42  
Хотин М. 24  
Хурс Е. 43  
Цимоха А. 29  
Чепурных Т.В. 22  
Чернов И.П. 30  
Чихиржина Е. 42  
Шатрова А.Н. 40  
Шахова Е.С. 22  
Шевцов М. 32, 38  
Шейхов М. 38  
Шенкарев З.О. 20  
Юдинцева Н. 38  
Яковлева Л. 38  
Ямпольский И.В. 22







