

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«КУРЧАТОВСКИЙ ИНСТИТУТ»

Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»

**XXIV Зимняя школа ПИЯФ
по биофизике и молекулярной биологии**

24–27 февраля 2026 г.

**Тезисы докладов
Молодежной конференции**

Москва – 2026

В данном выпуске представлены тезисы докладов Молодежной конференции XXIV Зимней школы ПИЯФ по биофизике и молекулярной биологии.

Организаторы: НИЦ «Курчатовский институт»
НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ

Программный комитет:

Председатель –
Коневега А. Л., к. ф.-м. н.

Кульминская А. А., к. б. н.
Лебедев Д. В., к. ф.-м. н.
Полесскова Е. В., к. б. н.
Пчелина С. Н., д. б. н.
Шабалин К. А., к. ф.-м. н.
Штам Т. А., к. б. н.

Организационный комитет:

Председатель – *Коневега А. Л.*
Сопредседатели:
Нестерчук Ю. Н., *Патрушев М. В.*
Секретари:
Орлова Е. А., *Белькова Н. В.*

Емельянов А. К., *Марченко Я. Ю.*,
Рябова Е. В., *Титов А. И.*,
Тяпина Н. В., *Штам Т. А.*,
Полесскова Е. В., *Столярова С. И.*,
Севастьянова А. А., *Алексеева Е. А.*,
Толичева О. А., *Шуленина О. В.*,
Головкина Д. А., *Грачев А. А.*,
Лапина И. М., *Алексеева О. А.*,
Изотова А. О., *Леонова Т. Н.*,
Яцишина Е. Б., *Пустынская А. С.*,
Чайка К. В.

Сборник подготовили: *Алексеева Е. А.*, *Коневега А. Л.*, *Орлова Е. А.*

Публикуется в авторской редакции.

XXIV Зимняя школа ПИЯФ по биофизике и молекулярной биологии: тезисы докладов Молодежной конференции, Москва, 24–27 февраля 2026 г. – Гатчина: Изд-во НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, 2026. – 182 с. – URL: <https://bioschool.npri.nrcki.ru>. – Текст: электронный.

ISBN 978-5-86763-501-5

© НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, 2026

**Тезисы докладов
Молодежной конференции**

Получение и характеристика клеток линии аденокарцинома Эрлиха с радиорезистентным фенотипом

Антышева Т. А., Бурдаков В. С., Верлов Н. А.

НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

antysheva_ta@pmpi.nrcki.ru

Целью работы являлось получение субпопуляций клеток линии аденокарциномы Эрлиха (АКЭ) с радиорезистентным фенотипом, а также их характеристика и сравнение по следующим параметрам: чувствительность к ионизирующему излучению, катионный состав асцитной жидкости, содержание общего белка и размер клеток и их ядер. Исследование катионного состава может дать новые сведения о метаболических и физиологических процессах, протекающих в опухолях, и их связи с радиочувствительностью. Изменения размеров клеток и их ядер могут свидетельствовать о молекулярных механизмах, позволяющих клеткам выживать в условиях воздействия ионизирующего излучения.

Субпопуляции клеток с радиорезистентным фенотипом получали в серии последовательных перевивок и облучений клеток АКЭ. Исходная популяция обозначена как WT, субпопуляции, сохранившие способность к перевивке после облучения дозами 20, 30 и 40 Гр, – RR20, RR30 и RR40. Чувствительность клеток к действию ионизирующего излучения определяли методом проточной цитометрии. Содержание катионов определяли методом капиллярного электрофореза. Оценку размеров клеток и их ядер проводили методом флуоресцентной микроскопии и с использованием проточной цитометрии.

В результате работы были получены субпопуляции клеток линии АКЭ с радиорезистентным фенотипом, сохраняющие способность к перевивке после облучения дозами до 40 Гр. Статистически значимых различий в концентрации катионов аммония, натрия, магния и кальция в асцитной жидкости между группами выявлено не было. Концентрация общего белка в асцитной жидкости снижалась по мере выраженности радиорезистентного фенотипа, однако данная тенденция прослеживалась только в пределах одного поколения перевивки, что может быть обусловлено замедлением метаболических процессов после воздействия ионизирующего излучения [1]. Размер клеток субпопуляции RR40 был меньше, чем RR30. Уменьшение размера клеток может быть связано со снижением вероятности повреждений ДНК при воздействии ионизирующего излучения [2].

1. Рымбаева А. А., Утегенова А. М., Ильдербаева Г. О. и др. Влияние радиации на энергетический обмен // Усп. совр. естествозн. 2011. № 8. С. 131. URL: <https://natural-sciences.ru/ru/article/view?id=27728> (дата обращения: 06.02.2026).
2. Таирбеков М. Г., Петров В. М. Медико-биологические эффекты ионизирующих излучений. М.: МИФИ, 2005. 106 с.

Оценка нейропротекторного потенциала фармакологического шаперона глюкоцереброзидазы N2 в головном мозге мышей с МФТП-индуцированным паркинсонизмом

Артынюк А. В.¹, Лавринова А. О.^{1,2}, Пидюрчина В. Н.¹, Руденок М. М.³, Рыболовлев И. Н.³, Сломинский П. А.³, Емельянов А. К.^{1,2}, Пчелина С. Н.^{1,2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

³ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

aleksandra.artynyuk@gmail.com

Болезнь Паркинсона (БП) – нейродегенеративное заболевание, характеризующееся накоплением олигомерных форм альфа-синуклеина в дофаминергических нейронах (ДА-нейронах), что приводит к их гибели. Распространенным фактором риска БП являются мутации в гене *GBA1*, кодирующем фермент лизосом глюкоцереброзидазу (GCase). Дисфункция данного фермента обуславливает накопление его субстрата – гексозилсфингозина – в клетках мозга и периферической крови пациентов с *GBA1*-ассоциированной формой БП (*GBA1*-БП) [1]. В настоящее время проводится активный поиск фармакологических шаперонов (ФШ) GCase, способных восстанавливать ее функцию. Ранее нами был предложен новый ФШ GCase N2, и его эффективность была продемонстрирована на пациент-специфичных клетках пациентов с *GBA1*-БП [2].

Целью настоящей работы было исследование нейропротекторного потенциала ФШ GCase N2 в мозге мышей с паркинсонизмом, индуцированным 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридином (МФТП).

Первой группе животных ($n = 5$) вводился ФШ N2 (22 мг/кг 1–6-й дни, 11 мг/кг 9–14-й дни), а второй группе ($n = 5$) только его растворитель. Введение животным МФТП (4 · 12 мг/кг на 7-й день) позволило смоделировать раннюю симптомную стадию БП. Оценка степени нейродегенерации ДА-нейронов в черной субстанции (ЧС) мозга проводилась методом иммуногистохимического окрашивания маркера ДА-нейронов тирозингидроксилазы и ядерного белка нейронов с визуализацией на микроскопе Leica TCS SP5 SMD FLCS (Leica Microsystems, Германия). Обработку изображений проводили с использованием программного пакета Fiji по опубликованной ранее методике [3]. Статистический анализ был выполнен в программе SPSS 21.0.

Впервые было выявлено, что введение ФШ GCase N2 мышам с МФТП-индуцированным паркинсонизмом способствовало сохранению числа ДА-нейронов в ЧС по сравнению с растворителем ($p = 0,017$).

Таким образом, можно предположить, что данный ФШ GCase обладает нейропротекторным эффектом.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500037-7-1.6.8; 1.6.1; 1.6.2; 1.6.3 «Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза социально значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения»).

1. Hertz E. *et al.* Gaucher disease provides a unique window into Parkinson disease pathogenesis // *Nat. Rev. Neurology*. 20 (9), 526–540 (2024).
2. Байдакова Г. В. и др. Аллостерический фармакологический шаперон, восстанавливающий функцию глюкоцереброзидазы: пат. РФ № 2809824 С1; приоритет от 19.12.2023.
3. Пчелина С. Н. и др. Двойная нейротоксическая модель досимптомной стадии паркинсонизма с дисфункцией глюкоцереброзидазы у мышей // *Биохимия*, 90 (8), 1148–1162 (2025).

Влияние частичной делеции гена *Nxf1* на структуру двигательных нейронов *Drosophila melanogaster*

Ахромов К. В.^{1,2}, Голубкова Е. В.², Саранцева С. В.¹, Рябова Е. В.¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологий, Санкт-Петербург, Россия

ahromov.kv@gmail.com

Ген *Nxf1* (nuclear export factor) относится к эволюционно консервативному семейству *Nxf*, представители которого выявлены у заднежутиковых [1]. Кодированный им белок NXF1 в клетке участвует в ядерно-цитоплазматическом транспорте мРНК. Свою функцию NXF1 выполняет, образуя гетеродимер с белком NXT1 (NTF2-related export protein 1). В структуре белка NXF1 выделяют четыре домена: RBD (RNA-binding domain), LRRs (Leucine-rich repeats), NTF2-like и UBA-like (ubiquitin associated-like). При этом NTF2-like домен обеспечивает взаимодействие с белком NTF2 (nuclear transport factor 2) в процессе контакта комплекса с ядерной порой [2], а UBA-like домен требуется для связывания с белками самой ядерной поры [3].

Исследования мутаций гена *Nxf1* (*sbr* у *Drosophila melanogaster*) выявили широкий спектр фенотипических отклонений: нарушения формирования щетинок у дрозофилы, дефекты развития нервной и мышечной систем, ослабление памяти и снижение фертильности.

Целью данной работы является изучение строения нервно-мышечных контактов и поведения мух вида *Drosophila melanogaster*, несущих частичную делецию гена *Nxf1*.

В результате работы были обнаружены увеличение площади нервно-мышечных контактов и нарушения строения их цитоскелета. Также достоверно показано уменьшение двигательной активности у особей, несущих частичную делецию гена *Nxf1*. Исходя из этого, можно сделать вывод, что продукты гена *Nxf1* играют важную роль в развитии и функционировании нервной системы.

1. Herold A., Suyama M., Rodrigues J.P. et al. (2000). TAP (NXF1) Belongs to a Multigene Family of Putative RNA Export Factors with a Conserved Modular Architecture // Mol. Cell. Biol. 20 (23): 89969–008.
2. Katahira J., Strässer K., Podtelejnikov A. et al. The Mex67p-Mediated Nuclear mRNA Export Pathway Is Conserved from Yeast to Human // EMBO J. 1999; 18 (9): 2593–609. doi: 10.1093/emboj/18.9.2593. PMID: 10228171; PMCID: PMC1171339.

3. Braun I.C., Herold A., Rode M., Izaurralde E. Nuclear Export of mRNA by TAP/NXF1 Requires Two Nucleoporin-Binding Sites but Not p15 // *Mol. Cell. Biol.* 2002; 22 (15): 5405–18. doi: 10.1128/MCB.22.15.5405-5418.2002.

Ассоциация вариантов гена *LRRK2* с риском болезни Паркинсона в российской популяции

Башарова К. С.^{1,2}, Безрукова А. И.^{1,2}, Сенкевич К. А.³, Милюхина И. В.⁴,
Тимофеева А. А.², Пчелина С. Н.^{1,2}, Усенко Т. С.^{1,2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

³ Монреальский неврологический институт при Университете Макгилла, Монреаль,
Канада

⁴ Институт мозга человека РАН, Санкт-Петербург, Россия

basharova_ks@pnpi.nrcki.ru

Болезнь Паркинсона (БП) – распространенное прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, связанное с гибелью дофаминергических нейронов черной субстанции и характеризующееся менделевским типом наследования в 10 % случаев. Данные анализа полногеномного поиска ассоциаций (GWAS) показал ассоциацию для гена *LRRK2*, кодирующего обогащенную лейциновыми повторами киназу 2 [1].

Целью работы стало проведение ассоциативного анализа вариантов гена *LRRK2* с риском БП в Северо-Западном регионе РФ.

В исследование включены пациенты с БП ($n = 566$) и контрольная группа ($n = 447$). Скрининг вариантов выполнен методом NGS-секвенирования на платформе Illumina NovaSeq 6000. Выравнивание выполняли на референсный геном hg19 с использованием алгоритма BWA, идентификация вариантов осуществлялась с помощью GATK v3.8. В анализ включали варианты с покрытием более 30 прочтений и качеством более 20.

У пациентов с БП выявлено 2 029 вариантов в гене *LRRK2*, из которых 8 были ассоциированы с риском БП, включая патогенный вариант p.G2019S с частотой 3,18 %. Впервые показана ассоциация с риском БП миссенс-варианта rs33995883 (p.Asn2081Asp) (ОШ = 1,82; ДИ 95 %: 1,05–3,25, $p = 0,045$) и интронных вариантов rs2499337648 (ОШ = 1,85; ДИ 95 %: 1,05–3,25; $p = 0,030$) и rs36220738 (ОШ = 1,71; ДИ 95 %: 1,01–2,87; $p = 0,043$). Протективный эффект в отношении риска БП выявлен для синонимичного варианта rs10878405 (ОШ = 0,69; ДИ 95 %: 0,53–0,89; $p = 0,005$), rs11564148 (p.Ser1647Thr) (ОШ = 0,63; ДИ 95 %: 0,49–0,82; $p = 0,00057$) и интронных вариантов rs7955902 (ОШ = 0,73; $p = 0,023$) и rs11176143 (ОШ = 0,72; ДИ 95 %: 0,54–0,95, $p = 0,024$). Вариант p.Ser1647Thr ранее описывался как фактор риска БП в отдельных популяциях [2].

Впервые была выявлена ассоциация rs33995883, rs11564148, rs2499337648, rs36220738, rs10878405, rs7955902, rs11176143 в гене *LRRK2* с

риском БП в российской популяции. Полученные данные подтверждают комплексную роль *LRRK2* в формировании риска БП.

Исследование поддержано грантом РФФ № 25-25-00922.

1. Rui Q., Ni H., Li D. *et al.* The Role of LRRK2 in Neurodegeneration of Parkinson Disease // *Curr. Neuropharmacol.* 2018; 16 (9): 1348–1357.
2. Zheng Y., Liu Y., Wu Q. *et al.* Confirmation of LRRK2 S1647T Variant as a Risk Factor for Parkinson's Disease in Southern China // *Eur. J. Neurol.* 2011. 18 (3): 538–540.

Накопление белка альфа-синуклеина коррелирует с нарушением mTOR-зависимой аутофагии в дофаминергических нейронах, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, при GBA1-ассоциированной болезни Паркинсона

*Безрукова А. И.^{1,2}, Башарова К. С.^{1,2}, Григорьева Е. В.¹, Павлова С. В.¹,
Пчелина С. Н.^{1,2}, Усенко Т. С.^{1,2}*

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

³ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

bezrukova_ai@pmpi.nrcki.ru

Патогенез нейродегенеративного заболевания болезни Паркинсона (БП), ассоциированного с мутациями в гене *GBA1* (GBA1-БП), при котором накапливается белок альфа-синуклеин, не известен. Ранее нами было выявлено нарушение mTOR-зависимой аутофагии в пациент-специфичных клетках GBA1-БП [1].

Цель – оценить корреляцию уровня альфа-синуклеина с уровнем белков, вовлеченных в mTOR-зависимую аутофагию, при GBA1-БП.

Получены дофаминергические нейроны, дифференцированные из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ДА-нейроны) от одного пациента с GBA1-БП и двух неврологически здоровых индивидуумов (контроль). mTOR-зависимая аутофагия оценивалась по уровню белков: фосфорилированный mTOR (p-mTOR; Ser2448), фосфорилированный RPS6 (p-RPS6; Ser235/236), Beclin-1, p62, LC3B, зрелая форма Cathepsin D, также измерялся уровень альфа-синуклеина (мономерный, фосфорилированный (Ser129), олигомерный) методом вестерн-блоттинг.

Показано увеличение уровня p-RPS6 (Ser235/236) в ДА-нейронах пациента с GBA1-БП ($p < 0,01$), уровня p-mTOR (Ser2448) без достижения статистической значимости ($p > 0,05$) по сравнению с контролем. ДА-нейроны пациентов с GBA1-БП характеризовались повышением уровня Beclin-1 ($p < 0,001$), снижением соотношения липидированной и цитозольной форм белка LC3B (LC3B-II/LC3B-I; $p < 0,01$) и отсутствием изменений уровня p62 ($p > 0,05$) на фоне увеличения содержания мономерной, фосфорилированной (Ser129) и олигомерной форм альфа-синуклеина ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Уровень мономерного альфа-синуклеина в ДА-нейронах пациента с GBA1-БП положительно коррелировал с уровнем p-RPS6 (Ser235/236), p-mTOR (Ser2448) и p62 ($p < 0,05$). Положительная корреляция наблюдалась в уровне фосфорилированного альфа-синуклеина (Ser129) с p-mTOR (Ser2448), LC3B-

II/LC3B-I ($p < 0,05$). Олигомерный альфа-синуклеин отрицательно коррелировал с Cathepsin D ($p < 0,05$).

Выявлено нарушение mTOR-зависимой аутофагии на уровне белков в ДА-нейронах пациента с GBA1-БП, что коррелировало с увеличением уровня различных форм альфа-синуклеина.

Исследование поддержано грантом РФФ № 25-25-00920.

1. Bezrukova A., Basharova K. *et al.* // Biochem. Genet. 2025. V. 64. P. 2272–2289.

Спектральные свойства трипанового синего как красителя, выявляющего коллагеновые волокна сердца крысы

Бекетова А. А.^{1,2}, Кирик О. В.¹, Коржевский Д. Э.¹

¹ *Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия*

² *Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия*

beketova.anastasiya@yandex.ru

Трипановый синий применяют в исследованиях, использующих явление флуоресценции, для подавления собственной флуоресценции ткани [1] и для выявления коллагеновых волокон [2]. Несмотря на перспективность использования флуоресцентных свойств данного реагента для изучения внеклеточного матрикса, на сегодняшний день не описаны спектральные характеристики указанного красителя. Цель данной работы – описать спектр флуоресценции трипанового синего, связанного с коллагеновыми волокнами.

В качестве объекта исследования были выбраны образцы сердца крыс линии SHR, фиксированные в цинк-этанол-формальдегиде и залитые в парафин ($n = 12$). Окрашивание 1%-ным водным раствором трипанового синего проводили в течение 5 мин после предварительной обработки фосфорномолибденовой кислотой в течение 15 мин (патент RU 2847328C1). Регистрацию спектра эмиссии окрашенных препаратов производили с помощью конфокального лазерного микроскопа LSM710, оснащенного 32-канальным спектральным детектором. Флуоресценцию красителя возбуждали лазером с длиной волны 561 нм. Съёмку спектра производили на диапазоне 571–727 нм с шагом 9,7 нм. Для анализа результатов сканирования использовали специализированную программу Zeiss LSM Image Browser.

Анализ полученных результатов показал, что интенсивность флуоресценции трипанового синего, связанного с коллагеновыми волокнами, немонотонно возрастает на отрезке длин волн эмиссии от 576 до 673 нм (на этом значении наблюдается максимум флуоресценции), а затем немонотонно убывает на отрезке длин волн 673–722 нм. При этом интенсивность испускания на длине волны 722 нм в 5,68 раза больше, чем на длине волны 576 нм.

Таким образом, в ходе исследования получены данные о флуоресценции трипанового синего, наблюдаемой при использовании данного реагента в качестве красителя для выявления коллагеновых волокон.

Работа выполнена за счет средств государственного задания ФГБНУ «ИЭМ» FGWG-2024-0015.

1. Srivastava G.K., Reinoso R. *et al.* // Exp. Eye Res. 93, 6 (2011).
2. Beketova A.A., Kirik O.V., Korzhevskii D.E. // Sovrem. Tekhnologii Med. 17, 5 (2025).

Уточнение молекулярных механизмов ингибирования биосинтеза белка аминогликозидами

Биджиева М. С.^{1,2}, Толочева О. А.¹, Полесскова Е. В.^{1,2}, Коневега А. Л.^{1,2,3}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
Санкт-Петербург, Россия

³ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва,
Россия

bidzhieva_ms@pnpi.nrcki.ru

Одной из основных проблем общественного здравоохранения является увеличение числа бактериальных штаммов с множественной устойчивостью к используемым в терапии антибиотикам. В связи со снижением эффективности применения существующего арсенала антибактериальных средств актуальной задачей является расширение спектра веществ для борьбы с бактериальными инфекциями. Для решения проблемы в кратчайшие сроки оптимальным является направленная модификация существующих или рациональный дизайн новых биологически активных молекул, которые могли бы оказывать негативное влияние на жизнедеятельность микроорганизмов в обход клинически распространенных механизмов резистентности. Для реализации данного подхода необходимо детальное изучение молекулярных механизмов действия и специфичности существующих антибактериальных веществ.

В ходе данной работы была проведена комплексная оценка влияния аминогликозидных антибиотиков канамицина А и стрептомицина на ключевые этапы биосинтеза белка и изучены некоторые молекулярные особенности ингибирования трансляции [1]. Было показано влияние антибиотиков на скорость и точность трансляции *in vitro*. Также было показано влияние стрептомицина и канамицина А на транслокацию, связывание и диссоциацию тРНК из А-сайта рибосомы.

Полученные результаты демонстрируют комплексный, многоуровневый характер ингибирования, при котором мишенью антибиотиков становится не один, а несколько ключевых этапов синтеза белка. Полученные данные открывают новые перспективы для преодоления резистентности бактерий путем модификации существующих или разработки новых антибиотиков, а также поиска соединений, способных вступать в синергетическое действие с аминогликозидами, усиливая каждый из выявленных эффектов.

1. Krause K.M. *et al.* Aminoglycosides: An Overview // Cold Spring Harb. Persp. Med. 2016. V. 6. No. 6. P. a027029.

Инструментарий для высокоэффективной экспрессии целевых белков в разных видах бактерий *Rhodococcus*

Блинова В. С., Костомарова Э. Ю., Гречишникова Е. Г., Шемякина А. О.,
Лавров К. В., Яненко А. С.

Курчатовский геномный центр Национального исследовательского центра
«Курчатовский институт», Москва, Россия

victoriia.blinova@mail.ru

Важной задачей биотехнологии является конструирование штаммов бактерий – цельноклеточных биокатализаторов [1, 2], способных к высокоэффективной экспрессии целевых белков, т. е. к синтезу целевого фермента на уровне порядка 50 % от растворимых внутриклеточных белков. Целью данной работы являлась оценка эффективности коринебактериального промотора P_{tuf} и новой плазмиды pRY3-Rho [3] для продукции целевого белка в четырех видах *Rhodococcus*.

Оценка эффективности P_{tuf} проводилась по уровню продукции TurboGFP двумя независимыми способами: по значениям удельной флуоресценции суспензий клеток FI/OD (Fluorescence Intensity / Optical Density) и визуально на электрофореze в ПААГ по доле этого белка среди внутриклеточных растворимых белков. Плазмиду pRY3- P_{tuf} -turboGFP [3], содержащую ген зеленого флуоресцентного белка *turboGFP* [4] под контролем P_{tuf} , вводили в клетки *R. coprophilus* ВКПМ Ac-1795, *R. percolatus* ВКПМ Ac-1799, *R. ruber* ВКПМ Ac-1801, *R. erythropolis* HX7 [5], *R. qingshengii* TA37 [6], *R. rhodochrous* M33 Δ full [7] с помощью электротрансформации (по методике, приведенной в [3]). Последние два штамма использовались как контрольные для сравнения с результатами предыдущей работы [3].

Полученные штаммы *Rhodococcus* сверхпродуцировали TurboGFP в течение всего времени культивирования в жидкой среде Лурия – Бертани (FI/OD 2–6 тыс. у. е.), что указывает на стабильное поддержание исследуемой плазмиды. На электрофореze белков для всех видов была обнаружена мажорная полоса белка ожидаемого веса (около 26 кДа). Такой уровень продукции целевого белка сравним с уровнями, достигаемыми в наиболее продуктивных на сегодняшний день бактериальных системах гипер-продукции в *Escherichia coli*, где доля целевого белка достигает приблизительно половины от внутриклеточных растворимых белков [3].

Таким образом, коринебактериальный промотор P_{tuf} и плазида pRY3-Rho оказались универсальными инструментами для гиперпродукции белка TurboGFP в шести видах *Rhodococcus*, а именно: *coprophilus*, *percolatus*, *ruber*, *erythropolis*, *qingshengii*, *rhodochrous*.

Финансирование: исследование выполнено в рамках работ по государственному заданию (тематическом плане) НИЦ «Курчатовский институт».

1. Lavrov K.V., Shemyakina A.O. *et al.* // *Metab. Eng. Commun.* 18 (2024).
2. Madavi T., Chauhan S. *et al.* // *Biofuels Bioprod. Biorefin.* 16, 3 (2021).
3. Шемякина А. О., Гречишникова Е. Г. и др. // *Биотехнология.* 6 (2023).
4. Evdokimov A.G., Pokross M.E. *et al.* // *EMBO Rep.* 7, 10 (2006).
5. Novikov A.D., Lavrov K.V. *et al.* // *Microbiol. Resour. Announce.* 10, 3 (2021).
6. Lavrov K.V., Novikov A.D. *et al.* // *Microbiol. Resour. Announce.* 10, 50 (2021).
7. Shemyakina A.O., Grechishnikova E.G. *et al.* // *ACS Synth. Biol.* 10, 3 (2021).

Отличия динамики созревания мяРНК в моторных нейронах людей, страдающих спинальной мышечной атрофией

Болихова А. К.^{1, 2, 3}, Буян А. И.⁴, Рубцова М. П.^{2, 3}, Донцова О. А.^{1, 2, 3},
Сергиев П. В.^{1, 2, 3}

¹ Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

² Научно-исследовательский институт физико-химической биологии
им. А. Н. Белозерского Московского государственного университета
им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

³ Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
химический факультет, Москва, Россия

⁴ Институт белка РАН, Пущино, Россия

anastasia_b7@mail.ru

Спинальная мышечная атрофия (СМА) – наследственное заболевание, характеризующееся повреждением моторных нейронов спинного мозга с последующей мышечной атрофией. Данное заболевание развивается при появлении инактивирующей мутации в гене *SMN1*, продукт которого участвует в цитоплазматическом этапе созревания малых ядерных РНК (мяРНК) [1]. Инактивация *SMN1* приводит к нарушению формирования рибонуклеопротеидов, входящих в состав сплайсосомы и, соответственно, снижению эффективности сплайсинга.

Хотя первопричина СМА ясна, точный механизм развития болезни остается неизвестен. В данной работе мы сравнили динамику созревания мяРНК в моторных нейронах здорового человека и пациентов, больных СМА. Используя методику выделения новосинтезированной РНК за 5-этилилуридин [2], мы проанализировали фракцию РНК, синтезированную за 20 мин и накопленную за 24 ч в клетках, дифференцированных в моторные нейроны. Для исследования были взяты нейроны на разных этапах дифференцировки, так как симптоматика заболевания развивается по мере созревания клеток.

В результате нам удалось вывести характеристику скорости созревания 3'-конца мяРНК. Исходя из скорости созревания и стабильности удалось выделить пять групп мяРНК, а также показать, как созревание и экспрессия каждой группы изменяются при созревании здоровых моторных нейронов и моторных нейронов с инактивированным *SMN1*.

Таким образом, данная работа предлагает неизвестное ранее новое деление мяРНК на группы в соответствии с моделью их созревания, а также позволяет чуть лучше понять роль различных групп мяРНК в развитии СМА.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 21-64-00006-П.

1. Bowerman M., Becker C.G. *et al.* Therapeutic Strategies for Spinal Muscular Atrophy: SMN and Beyond // *Disease Mod. Mech.* 2017. 10 (8), 943–954.
2. Bolikhova A.K., Buyan A.I. *et al.* Study of the RNA Splicing Kinetics *via in vivo* 5-EU Labeling // *RNA*. 2024. 30 (10), 1356–1373.

Влияние фотодинамической инактивации на основные биологические макромолекулы *Escherichia coli*

Буреев П. А., Елагин В. В.

Приволжский исследовательский медицинский университет
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Нижний Новгород

bureev.pavel34@gmail.com

В результате широкого и неконтролируемого использования антибиотиков все чаще встречаются инфекции, вызванные микроорганизмами с множественной устойчивостью к антибиотикам. Альтернативой антибиотикам может стать антибактериальная фотодинамическая терапия. Ее суть заключается в возбуждении под действием света молекулы фотосенсибилизатора, которая обеспечивает продукцию активных форм кислорода, оказывающих бактерицидное действие [1]. Несмотря на то что метод антибактериальной фотодинамической терапии известен достаточно давно, четкого понимания механизмов гибели микроорганизмов до сих пор не достигнуто. Подробное изучение мишеней антибактериальной фотодинамической терапии (АФДТ) и механизмов гибели бактерий во время терапии важно для подбора оптимальных параметров терапии с целью повышения ее эффективности, разработки новых фотосенсибилизаторов и новых комбинаций АФДТ с другими методами лечения.

Целью данного исследования явилось изучение влияния различных режимов АФДТ на основные биологические макромолекулы клеток *Escherichia coli*.

Нами было показано, что максимальная эффективность фотодинамической инактивации *E. coli* достигается при использовании режима облучения с плотностью мощности 450 мВт/см² в комбинации с Triton X-100, логарифмическое сокращение при этом составляет 2,5. Было выявлено, что максимальная продукция активных форм кислорода и ТБК-активных продуктов окисления липидов также происходит при использовании плотности мощности 450 мВт/см². Установлено, что наибольшее повреждение геномной ДНК *E. coli* достигается при комбинации плотности мощности 450 мВт/см² и Triton X-100.

Таким образом, можно сделать заключение, что при внеклеточной локализации фотосенсибилизатора основной мишенью образующихся активных форм кислорода становятся липиды клеточной стенки. Добавление Triton X-100 увеличивает внутриклеточную локализацию фотосенсибилизатора, и мишенью АФК становятся внутриклеточные белки и геномная ДНК.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 23-65-10005.

1. Cieplik F., Deng D., Crielaard W. *et al.* Antimicrobial Photodynamic Therapy – What We Know and What We Don't // *Crit. Rev. Microbiol.* 2018. 44 (5): 571–589.

Контроль качества плазмы крови внутри протеомного масс-спектрометрического исследования

Вакарюк А. В., Бутенко И. О., Кициловская Н. А., Коваленко А. В.,
Гремячева В. Д., Кожемякин Г. Л., Говорун В. М.

*Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины
Роспотребнадзора, Москва, Россия*

vakaryuk_av@sysbiomed.ru

Протеомика плазмы крови на основе масс-спектрометрического анализа позволяет проводить качественную и количественную оценку содержания белков в сложной смеси. В исследованиях по поиску и определению биомаркеров важно понимать, что найденный маркер не является артефактом преаналитического этапа подготовки плазмы – гемолиза или коагуляции.

В статье по профилированию плазмы были предложены панели белков, репрезентирующих три основные причины возникновения проблем с качеством образца: коагуляция, контаминация тромбоцитами и эритроцитами [1]. В своем исследовании мы повторили аналогичные эксперименты с панорамным и направленным протеомным анализом с целью ввести оценку гемолиза и соответствующие критерии для исключения образцов в стандартный протокол MRM-анализа.

В эксперименте по определению маркеров гемолиза плазма разводилась лизированными эритроцитами в соотношении 0,1; 1; 10; 20 и 100 % гемолиза. Стабильный и воспроизводимый отклик на гемолиз показали три пептида гемоглобина и один пептид карбоновой ангидразы-1. Их концентрации коррелировали с долей разрушенных эритроцитов во всех экспериментальных сериях, что воспроизводит результаты, ранее полученные в панорамных исследованиях.

В пробах с 1 % гемолиза концентрация свободного гемоглобина ~ 0,4 г/л. При таком количестве свободного гемоглобина наблюдаются изменения у чувствительных к гемолизу белков – лактатдегидрогеназы и аспартата аминотрансферазы [2]. В образцах с 10 % гемолиза ~ 3 г/л, для некоторых клинических маркеров наблюдается снижение концентрации почти в 2 раза.

В исследовании были подобраны пептиды, которые могут использоваться в качестве стандартов в таргетном MRM-анализе для контроля качества плазмы крови, позволяющие количественно оценивать уровень гемолиза и наличие коагуляции непосредственно в рамках протеомного анализа. Метод позволит быстро анализировать большие коллекции и исключать поврежденные пробы из анализа.

1. Geyer P.E., Voytik E., Treit P.V. *et al.* Plasma Proteome Profiling to Detect and Avoid Sample-Related Biases in Biomarker Studies // *EMBO Mol. Med.* 2019; 11 (11): e10427. doi:10.15252/emmm.201910427.
2. Koseoglu M., Hur A., Atay A., Cuhadar S. Effects of Hemolysis Interferences on Routine Biochemistry Parameters // *Biochem. Med. (Zagreb)*. 2011; 21 (1): 79–85. doi:10.11613/bm.2011.015.

Система доставки бора в раковые клетки на основе металлоорганических каркасных структур для нейтронозахватной терапии

Василенко А. И.¹, Котельникова П. А.^{2,3,4}, Деев С. М.^{2,4}

¹ Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ», Москва, Россия

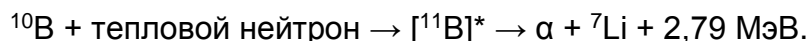
² Институт биоорганической химии им. акад. М. М. Шемякина
и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

³ Физический институт им. Н. П. Лебедева РАН, Москва, Россия

⁴ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва,
Россия

vas.alena.22@gmail.com

Бор-нейтронозахватная терапия (БНЗТ) – избирательное уничтожение клеток злокачественных опухолей путем накопления в них стабильного изотопа ^{10}B и последующего облучения тепловыми нейтронами. В результате происходит ядерная реакция:



Пробег данных частиц не превышает пределы характерного размера клеток, обеспечивая высокую селективность терапии [1].

Одной из ключевых проблем данного метода является отсутствие эффективных способов доставки бора. Решением выступают металлоорганические каркасные структуры (МОКС) – новый класс кристаллических пористых материалов, состоящий из ионов металлов и органических линкеров [2]. Благодаря высокой пористости, большой площади поверхности, биоразлагаемости, биосовместимости МОКС способны выступать в качестве эффективных агентов доставки бора в раковые клетки.

В ходе данной работы изучены физико-химические характеристики металлоорганических каркасных структур MIL101(Cr) и MIL101-NH₂(Cr) методами динамического рассеяния света и электрофоретического светорассеяния.

Далее исследована загрузка соединения B₁₂H₁₂(NBu₄)₂ в наночастицы с помощью масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой ICP-MS. Достигнуты следующие значения загрузки: для MIL101(Cr) (1,7 ± 0,1) и для MIL101-NH₂(Cr) (1,4 ± 0,1) мкг ^{10}B на мг МОКС.

Изучено накопление бора в клетках EMT6/P методом ICP-MS, а также проведено исследование токсичности *in vitro* с помощью МТТ-теста. Данные свидетельствуют о низкой токсичности МОКС MIL101(Cr) и MIL101-NH₂(Cr). Результаты сопоставлены с литературными данными и сделан вывод, что данная система сможет стать перспективным агентом для БНЗТ.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 24-62-00018) в рамках программы «Передовые комбинированные технологии нейтронозахватной терапии».

1. Boron Delivery Agents in BNCT: A Mini Review of Current Developments and Emerging Trends / R.M. Murilla, G.G. Edilo, M.L.M. Budlayan, E.S. Auxtero // Nano TransMed. – 2025. – V. 4. – Boron Delivery Agents in BNCT. – P. 100081.
2. Lawson H.D. Metal–Organic Frameworks for Drug Delivery: A Design Perspective / H.D. Lawson, S.P. Walton, C. Chan // ACS App. Mater. Interfac. – 2021. – V. 13. – Metal–Organic Frameworks for Drug Delivery. – No. 6. – P. 7004–7020.

Увеличение уровня циклической РНК hsa_circ_HIPK3 в мононуклеарных клетках крови при коронарном атеросклерозе

*Виноградина М. А.¹, Дергунов А. Д.², Басерова В. Б.², Попов М. А.³,
Филиппенков И. Б.¹, Дергунова Л. В.¹*

¹ *Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия*

² *Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины Минздрава России, Москва, Россия*

³ *Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского, Москва, Россия*

vin-rita@yandex.ru

Коронарная болезнь сердца, вызываемая атеросклеротическими процессами, продолжает быть ведущей причиной инвалидизации и смертности взрослого населения во всем мире. Ранее нами был выявлен ряд генов, связанных с тяжестью атеросклероза [1], и с помощью биоинформатического поиска обнаружены циклические РНК (циклоРНК), потенциально участвующие в регуляции их экспрессии. Целью данной работы является анализ экспрессии выявленных циклоРНК в образцах мононуклеарных клеток крови контрольных пациентов и пациентов с коронарным атеросклерозом.

В исследование включены 83 пациента без коронарного атеросклероза и 94 пациента со стенозом коронарных артерий, подтвержденным коронарной ангиографией. С помощью ОТ-ПЦР в реальном времени в препаратах РНК, выделенных из мононуклеарных клеток крови пациентов, измерен уровень экспрессии циклоРНК circCHD7, circHIPK3 и circSLC8A1.

Показано увеличение экспрессии циклоРНК hsa_circ_HIPK3 (cut-off >1,5; $\text{radj} < 0,05$) в мононуклеарных клетках крови пациентов со стенозом по сравнению с контрольными пациентами.

Увеличившая экспрессию циклоРНК hsa_circ_HIPK3 предположительно участвует в регуляции экспрессии генов *ITGB3*, *CD36*, *IL18* и *VEGFA*, ответственных за метаболизм липопротеинов, развитие воспалительной реакции и врожденный иммунитет. Перечисленные факторы являются основополагающими для развития и прогрессирования коронарного стеноза. Таким образом, hsa_circ_HIPK3 может являться потенциальным регулятором экспрессии мРНК генов, отражающих течение заболевания, и может быть использована для оценки прогноза и лечения коронарного стеноза.

Работа выполнена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

1. Dergunov A.D., Nosova E.V., Rozhkova A.V. *et al.* Expression of Preselected Genes in Mononuclear Blood Cells Is Associated with the Extent of Coronary Artery Stenosis // *Biochemistry (Mosc)*. 2025; 90 (8): 1037–1048. doi:10.1134/S0006297925600309.

Влияние аллельных вариантов гена каппа-казеина на продуктивность и качество молока коров стада ООО «Возрождение»

Галицкая С. А., Скворцова Е. Г.

Ярославский государственный аграрный университет, Ярославль, Россия

Sgalitskaya845@mail.ru

Каппа-казеин (CSN3) – ключевой белок молока, определяющий его сыропригодность [1]. Наиболее распространенными в популяциях крупного рогатого скота являются аллели А, В и Е, формирующие шесть основных генотипов: АА, АВ, АЕ, ВВ, ВЕ, ЕЕ [2]. Распределение этих аллелей значительно варьирует между породами. Так, у голштинского скота исторически преобладал аллель А, а доля аллеля В составляла около 17 %, однако в последние годы селекция позволила увеличить ее до 40 % в отдельных стадах [3]. Исходно высокая частота благоприятного аллеля В гена *CSN3* характерна для ряда бурых пород крупного рогатого скота. У джерсейской и бурой швицкой пород она может достигать 70–82 %, что предопределяет их высокий генетический потенциал для производства сыропригодного молока [4].

Объекты исследования – 78 коров ярославской породы из стада ООО «Возрождение». Проанализированы генотипы по гену *CSN3* и их связь с молочной продуктивностью и составом молока. Выявлено семь генотипов с преобладанием гетерозигот АВ (49 %) и гомозигот АА (35 %). В стаде доминирует аллель А (60 %), однако значительная доля аллеля В (35 %) свидетельствует о генетическом потенциале для улучшения технологических свойств молока. Установлено, что генотип АА ассоциирован с более высоким удоем ($3\ 171 \pm 182$ кг), тогда как присутствие аллеля В (генотипы АВ и ВВ) связано с тенденцией к повышению массовой доли жира и белка. Дисперсионный анализ не выявил статистически значимых различий между генотипами по изучаемым признакам ($p > 0,05$), однако расчетные доли влияния генотипа (η^2) составили 7 % для удоя, 11 % для МДЖ и 15 % для МДБ, что указывает на его умеренное влияние, особенно на качественные показатели молока. Внутри генотипов выявлена существенная вариабельность продуктивности, наиболее выраженная по удою у генотипа АА (Cv 28 %), по содержанию жира и белка у генотипа АВ (Cv 10 и 8 %). Внедрения маркер-опосредованной селекции на аллель В гена *CSN3* позволит постепенно улучшать сыропригодность молока без снижения надоев.

1. Чаицкий А. А., Лемякин А. Д., Тяжченко А. Н. и др. Влияние генотипов гена каппа-казеина на сыропригодные свойства молока коров // Вестн. АПК Верхневолжья, 2022. № 2 (58). С. 33-43. doi:10.35694/YARCX.2022.58.2.005.

2. Breeding for Kappa Casein to Increase Cheese Yield. www.thebullvine.com. URL: <https://www.thebullvine.com> (дата обращения: 28.01.2026).
3. Lavon Y., Weller J.I., Zeron Y., Ezra E. Estimating the Effect of the Kappa Casein Genotype on Milk Coagulation Properties in Israeli Holstein Cows // *Animals (Basel)*. 2023. V. 14 (1). P. 54. doi: 10.3390/ani14010054.
4. Подречнева И. Ю., Щеголев П. О., Белокуров С. Г. Аллельный полиморфизм генов *CSN3* и *CSN2* у быков-производителей молочных пород // *Международ. научно-исслед. журн.* 2020. № 5 (95). С. 109–113. doi: 10.23670/IRJ.2020.95.5.019.

Влияние ингибиторов mTOR- и STING-сигналинга на морфологию лизосом в пациент-специфичных клетках при болезни Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене *GBA1*

Галкина Е. С.¹, Безрукова А. И.^{1,2}, Башарова К. С.^{1,2}, Милюхина И. В.³,
Пчелина С. Н.^{1,2}, Усенко Т. С.^{1,2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

³ Институт мозга человека им. Н. П. Бехтеревой РАН, Санкт-Петербург, Россия

katherinegalkina@yandex.ru

Болезнь Паркинсона (БП) – распространенное нейродегенеративное заболевание, в основе патогенеза которого лежит гибель нейронов и накопление белка альфа-синуклеина. Молекулярные механизмы БП неизвестны, и нейропротекторной терапии не существует. Дисфункция лизосом, участвующих в деградации альфа-синуклеина в клетке, может играть важную роль в патогенезе БП. Наиболее распространенная и перспективная для разработки таргетной терапии форма БП с известной этиологией – БП, ассоциированная с мутациями в гене *GBA1* (*GBA1*-БП), кодирующем лизосомный фермент глюкоцереброзидазу (GCase). Ранее было показано, что *GBA1*-БП характеризуется активацией mTOR- и STING-сигналинга, играющих ключевую роль в регуляции лизосомного биогенеза, процессов аутофагии и иммунного ответа [1, 2].

Цель – оценка влияния ингибирования mTOR (Torin 1) и STING (H-151) на морфологию лизосом в первичной культуре макрофагов периферической крови (ПКМПК) при *GBA1*-БП.

В ходе данного исследования была получена ПКМПК от 8 неврологически здоровых индивидуумов (контроль) и 8 пациентов с *GBA1*-БП. ПКМПК культивировалась в присутствии ингибиторов Torin 1 (100 нМ) и H-151 (1 μМ) в течение 24 ч. Методом вестерн-блоттинга оценивалась эффективность ингибирования по уровням фосфорилированных белков mTOR (Ser2448), RPS6 (Ser235/236), TBK1 (Ser172) и STING. Количество и размер лизосом оценивали с помощью окрашивания LysoTracker с последующим анализом методом конфокальной флуоресцентной микроскопии.

ПКМПК пациентов с *GBA1*-БП характеризовалась снижением количества лизосом ($p < 0,05$) без изменения их размера ($p > 0,05$) по сравнению с контролем. При обработке клеток ингибитором Torin 1 и сочетанном использовании препаратов Torin 1 и H-151 наблюдалось увеличение количества лизосом ($p < 0,05$) на фоне отсутствия изменений их размера.

В работе было выявлено, что одновременная модуляция mTOR- и STING-сигналинга приводит к увеличению количества лизосом при GBA1-БП, что может служить перспективной основой для разработки таргетной терапии.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500037-7-1.6.8; 1.6.1; 1.6.2; 1.6.3).

1. Khan M.R., Yin X., Kang S.-U. *et al.* // *Sci. Transl. Med.* V.15. No.724. eadd0499 (2023).
2. Wang R., Sun H., Cao Y. *et al.* // *Sci. Signal.* V. 17. No. 829. eadk8249 (2024).

Анализ биологических свойств конъюгата эндометаллофуллерена лютеция с фолиевой кислотой и поливинилпирролидоном, как прототипа препарата для таргетной онкотерапии

Ганина А. А.^{1,2}, Борисенкова А. А.^{1,2}, Большакова О. И.¹, Саранцева С. В.¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), Санкт-Петербург, Россия

nastya.ganina04@mail.ru

Фуллерены и их производные способны проявлять антиоксидантную активность, а также обладают низкой токсичностью *in vivo* [1]. Конъюгаты фуллерена с фолиевой кислотой характеризуются способностью селективно связываться с клетками с высоким уровнем экспрессии фолатных рецепторов (ФР) и не проявляют цитотоксичности [2], что предполагает создание на этой основе прототипов препаратов для таргетной онкотерапии и исследование их биологических свойств, включая взаимодействие с клетками и влияние на ключевые клеточные процессы.

Целью работы была оценка биологической активности конъюгата эндометаллофуллерена лютеция с фолиевой кислотой и поливинилпирролидоном (ФК–ПВП–Lu@C₈₂₋₈₄).

Анализ проводили на линиях опухолевых клеток с высоким и низким уровнем экспрессии ФР (HeLa и A549 соответственно), а также нормальных фибробластах человека (DF2). Интернализацию конъюгата анализировали методом проточной цитометрии. Визуализацию осуществляли с использованием голотомографического микроскопа HT-X1 и подтверждали методом иммуногистохимии. Дополнительно исследовали влияние конъюгата на клеточный цикл и миграционную активность.

Показано, что конъюгат проникает в клетки и накапливается в них, причем интенсивность флуоресценции выше в клетках с высокой экспрессией ФР. Установлено, что добавление конъюгата снижает миграционную активность, тогда как клеточный цикл остался неизменным.

Таким образом, конъюгат ФК–ПВП–Lu@C₈₂₋₈₄ является биосовместимым, не нарушает основные клеточные процессы и накапливается в клетках с высокой экспрессией ФР, что подтверждает его перспективность для дальнейших исследований в области таргетной онкотерапии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 23-73-01085.

1. Fullerenes *in vivo*. Toxicity and Protective Effects / O. Bolshakova, O. Zherebyatieva, S.V. Sarantseva // *Nanotoxicology*. – 2025. – V. 19. – No. 3. – P. 233–258. – doi: 10.1080/17435390.2025.2471273.
2. Fullerene C₆₀ Conjugate with Folic Acid and Polyvinylpyrrolidone for Targeted Delivery to Tumor Cells / A.A. Borisenkova, O.I. Bolshakova, A.V. Titova [*et al.*] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2024. – V. 25. – No. 10. – P. 5350. – doi: 10.3390/ijms25105350.

Использование ddRAD-секвенирования для анализа разнообразия коллекций растений

Гладышева-Азгари М. В.^{1,2}, Цыганкова С. В.¹, Слободова Н. В.^{1,3},
Булыгина Е. С.¹, Шарко Ф. С.¹

¹ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

² Главный ботанический сад им. Н. В. Цицина РАН, Москва, Россия

³ Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва, Россия

marglader@gmail.com

Технология ddRAD-секвенирования (double digest restriction-site associated DNA sequencing) является эффективным инструментом для массового генотипирования и анализа генетического разнообразия коллекций растений. В данном исследовании применен ddRAD-seq для изучения трех различных плодовых культур: персика обыкновенного (*Prunus persica* L.), разных видов актинидий (*Actinidia* spp.) и маслины европейской (*Olea europaea* L.) – коллекций Никитского ботанического сада и Главного ботанического сада РАН.

На примере 56 сортов персика показано, что ddRAD-seq позволяет выявить тысячи однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) и идентифицировать 14 генетических кластеров, отражающих высокое внутривидовое разнообразие. Генетическая структура частично коррелировала со сроками созревания плодов. 40 SNP-маркеров, локализованных на хромосомах 1, 4 и 8, могут быть достаточными для паспортизации всех изученных генотипов [1].

В исследовании 94 образцов дальневосточных видов актинидии ddRAD-seq позволил не только четко разделить виды, но и выявить внутривидовую структуру, оценить уровень пloidности и идентифицировать SNP, ассоциированные с неосыпаемостью плодов у *A. kolomikta* [2].

Анализ 151 образца маслин выявил 10 генетических групп, в основном соответствующих географическому происхождению сортов. Метод подтвердил синонимичность некоторых сортов, а также показал наличие примесей итальянских и кавказских генотипов у многих местных крымских сортов, что прояснило их происхождение и генетические взаимосвязи [3].

Таким образом, ddRAD-секвенирование доказало свою высокую эффективность для решения широкого круга задач генетического анализа коллекций растений: от оценки общего разнообразия и популяционной структуры до разработки SNP-панелей для паспортизации сортов, контроля чистоты и поддержки селекционных программ.

1. Гладышева-Азгари М. В. и др. Генетическое разнообразие сортов персика (*Prunus persica* (L.)) коллекции Никитского ботанического сада // Мол. генет., микробиол. и вирусол. 2025; 43 (4 вып. 2): 150–156.
2. Slobodova N. *et al.* Genetic Diversity of the Collection of Far Eastern Actinidia spp. Revealed by RAD Sequencing Technology // Plants. 2025; 14 (1): 7.
3. Slobodova N. *et al.* Genetic Diversity of Common Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars from Nikita Botanical Gardens Collection Revealed Using RAD-Seq Method // Genes. 2023; 14 (7): 1323.

Роль дрожжеподобного гриба *Scytalidium candidum* в процессах минералообразования

Головкина Д. А., Журишкина Е. В., Федорова Н. Д., Кульминская А. А.

НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

golovkina_da@pmpi.nrcki.ru

Грибы являются одними из наиболее распространенных и функционально значимых организмов на Земле. Они обитают в почвах, воде, на поверхности и внутри живых организмов, а также в экстремальных условиях, играя ключевую роль в круговороте веществ. Грибы вовлечены в широкий ряд биогеохимических процессов, таких как разложение органических веществ, преобразование элементов и взаимодействие с минералами. Одним из важнейших, но до сих пор недостаточно изученным процессом с их участием является биоминерализация – образование минеральных фаз в результате метаболической активности организмов. Изучение механизмов грибной биоминерализации открывает перспективы для развития биотехнологических, природоподобных и восстановительных технологий в загрязненных средах [1].

В нашем предыдущем исследовании [2] был выявлен потенциал использования дрожжеподобного гриба *Scytalidium candidum* 3С и бактерии *Bacillus licheniformis* DSMZ 8782 для стабилизации почвы. Обработка грибной биомассой приводила к значительному укреплению почвы по сравнению с контролем за счет влияния на механические, микробиологические и физико-химические параметры. Однако механизмы минералообразования у грибных организмов могут существенно отличаться от аналогичных процессов у бактерий, биогенная минерализация которых широко исследована [3]. Фенотипические и молекулярные аспекты образования минералов у грибов, особенно у *Sc. candidum*, остаются недостаточно изученными. В настоящей работе были детально изучены процессы осаждения карбоната кальция дрожжеподобным грибом *Sc. candidum* 3С при внесении мочевины и хлорида кальция, совместно и по отдельности, в питательную среду. Полученные результаты позволили выдвинуть предположение о том, что данный микроорганизм обладает уреолитическим потенциалом, открывая пути для создания новых технологий укрепления почвы.

1. Gadd G.M. Geomycology: Biogeochemical Transformations of Rocks, Minerals, Metals and Radionuclides by Fungi, Bioweathering and Bioremediation // Mycol. Res. 2007. V. 111. No. 1. P. 3–49.
2. Golovkina D.A. et al. From Waste to Strength: Applying Wastepaper, Fungi and Bacteria for Soil Stabilization // App. Sci. 2024. V. 14. P. 11678.

3. Ivanova L.A. *et al.* Matrix Is Everywhere: Extracellular DNA Is a Link between Biofilm and Mineralization in *Bacillus Cereus* Planktonic Lifestyle // npj Biofilms Microbiom. 2003. V. 9. No. 9.

Анализ кинетики продукции секреторного эндолизина GRC-ML01 при *in vitro* трансфекции мРНК

Гольдин И. В., Дедова А. В., Антонова Н. П., Васина Д. В.

Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии
им. почетного академика Н. Ф. Гамалеи, Москва, Россия

goldiniv@mail.ru

Лекарственная устойчивость бактерий представляет собой одну из ключевых проблем общественного здравоохранения. Из-за существенно снизившегося числа регистрируемых препаратов для лечения бактериальных инфекций растет острая необходимость в разработке новых средств с высокими показателями эффективности и безопасности [1]. Одним из перспективных вариантов являются литические ферменты бактериофагов – эндолизины [2].

Эндолизины обладают рядом ценных с фармакологической точки зрения характеристик [3], однако не лишены недостатков: как и многие белки, они иммуногенны и быстро деградируют в организме [4]. Возможным решением может стать применение технологии мРНК [5].

Ранее нами были получены 5 мРНК-конструкций, кодирующих эндолизин GRC-ML01, модифицированную цинк-зависимую эндопептидазу, с различными N-концевыми сигнальными последовательностями. Для всех конструкций была продемонстрирована продукция секреторной формы GRC-ML01 при *in vitro* трансфекции клеточной линии HEK293.

Поскольку для оценки антибактериальной активности фермента в присутствии компонентов клеточной среды необходимо достичь определенного уровня концентрации белка во внеклеточном пространстве, в рамках данного исследования мы выбрали мРНК-конструкцию, обеспечивающую наиболее высокий выход GRC-ML01, и изучили для нее кинетику продукции. Было показано, что синтез GRC-ML01 клетками начинается спустя 1–2 ч с момента трансфекции и наблюдается не менее 48 ч, при этом концентрация белка в надклеточной жидкости достигает ~ 10 мкг/мл спустя 72 ч. Фермент не накапливается в клетках – он секретируется во внеклеточное пространство или деградирует под действием внутриклеточных протеаз. Белок также претерпевает частичное протеолитическое расщепление при прохождении секреторного пути.

Таким образом, полученная мРНК-конструкция обеспечивает продукцию внеклеточной формы GRC-ML01 в концентрациях не менее 10 мкг/мл в течение первых трех суток после трансфекции, что позволяет оценить антибактериальную активность фермента.

1. Ventola C.L. // P & T. 40, 4 (2015).
2. Abdelrahman F. *et al.* // Antibiotics (Basel). 10, 2 (2021).
3. Murray E. *et al.* // Viruses. 13, 4 (2021).
4. Grishin A.V. *et al.* // Molecules. 24, 10 (2019).
5. Duan Q. *et al.* // Front. Immunol. 13, (2022).

Использование алгоритма анализа вторичной и третичной структуры нуклеиновых кислот DSSNA для оценки структурных особенностей ДНК и РНК в траекториях молекулярной динамики

Горелов С. В.^{1, 2}, Коневега А. Л.^{1, 2, 3}, Швецов А. В.^{1, 2, 3}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

³ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

gorelov_sv@npi.nrcki.ru

С развитием компьютерных технологий изучение структурных свойств нуклеиновых кислот выходит за рамки привычного статического подхода. Биологическая активность ДНК и РНК в значительной степени обусловлена их конформационной подвижностью: локальные колебания, переключения между конформациями, кратковременные разрывы или формирование водородных связей существенно влияют на репликацию, транскрипцию, контроль экспрессии генов и взаимодействия с белками. Однако динамическая эволюция структуры этих макромолекул по-прежнему остается наименее исследованным направлением.

Метод молекулярной динамики (МД) дает исчерпывающие данные о траекториях движения атомов, но их анализ требует инструментов для оперативного распознавания и классификации структурных мотивов прямо в динамических траекториях. В настоящей работе мы предлагаем подход к такому анализу, сосредоточенный на подробном описании вторичной и третичной структуры нуклеиновых кислот с учетом их временных трансформаций.

Для воплощения предложенного подхода мы разработали алгоритм DSSNA, который по точности распознавания структурных мотивов не уступает установленным инструментам вроде X3DNA/DSSR [1, 2], но с ключевым преимуществом – поддержкой анализа траекторий молекулярной динамики.

Это открывает новые горизонты в исследовании динамики ДНК и РНК: от биофизического моделирования и структурной биологии до выявления потенциальных целей для фармацевтических агентов. Разработанная методика анализа в сочетании с алгоритмом позволяет эволюционировать от разрозненного статического обзора структур нуклеиновых кислот к всестороннему динамическому профилю.

Работа была поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, грант № 075-15-2024-630 (разработка алгоритма) и тема № 1023031500033-1-1.6.7; 1.6.4; 1.6.8 «Функциональная и структурная организация

сложных, мультикомпонентных биологических систем и их динамика (молекулярная динамика и тестирования алгоритма)».

1. Lu X.J., Olson W.K. 3DNA: A Software Package for the Analysis, Rebuilding and Visualization of Three-Dimensional Nucleic Acid Structures // Nucl. Acids Res. 2003; 31 (17): 5108–5121.
2. Lu X.J, Bussemaker H.J., Olson W.K. DSSR: An Integrated Software Tool for Dissecting the Spatial Structure of RNA // Nucl. Acids Res. 2015; 43(21): e142.

Боттромицин A₂ – ингибитор бактериальной трансляции с уникальным механизмом действия

Грачев А. А.¹, Толочева О. А.¹, Касацкий П. С.¹, Полесскова Е. В.^{1, 2},
Коневега А. Л.^{1, 2, 3}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
Санкт-Петербург, Россия

³ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва,
Россия

grachev_aa@pnpi.nrcki.ru

Антибиотики являются наиболее эффективными лекарственными средствами, применяемыми в клинической практике. Несмотря на это, терапевтическая эффективность препаратов постоянно снижается в результате развития и распространения резистентных штаммов патогенных бактерий. Большинство антибактериальных веществ обладает механизмом действия, направленным на нарушение биосинтеза белка, что лишь дополнительно подтверждает необходимость фундаментального изучения процессов биосинтеза белка, в том числе в присутствии ингибиторов трансляции.

Боттромицин A₂ (Bott A₂) – представитель класса пептидных макроциклических антибиотиков – боттромицинов, обладающих активностью против грамположительных и грамотрицательных бактерий [1, 2]. Данная работа посвящена изучению молекулярного механизма действия Bott A₂ с использованием восстановленной *in vitro* системы трансляции *Escherichia coli*. С помощью электрофоретического разделения и высокочувствительной детекции флуоресцентно меченных олигопептидов было показано, что Bott A₂ ингибирует образование пептидной связи на рибосоме при встраивании глициновой аминоксил-тРНК, тогда как подобный эффект отсутствует в случае связывания тРНК с другими аминокислотами: фенилаланином или валином. С помощью метода измерения предстационарной кинетики парциальных реакций трансляции было показано, что Bott A₂ не препятствует начальному связыванию Gly-тРНК^{Gly} в А-сайт рибосомы, но ингибирует ее аккомодацию. Было показано, что в присутствии Bott A₂ фактор трансляции EF-Tu блокируется на рибосоме и не высвобождает Gly-тРНК^{Gly} [3]. Отсюда можно предположить, что, в отличие от большинства ингибиторов трансляции, Bott A₂ связывается не с рибосомой, а с EF-Tu в тройном комплексе EF-Tu·ГТФ·Gly-тРНК^{Gly}, и препятствует высвобождению глицина из аминокислотного кармана элонгационного фактора. Специфичность Bott A₂, вероятно, коррелирует с размером глицинового остатка, так как в случае больших по размеру аминокислот Bott A₂ не ингибирует связывание тРНК в А-сайт. Скорее всего, это

связано с конкуренцией Bott A_2 и аминокислотного остатка на тРНК при связывании с EF-Tu.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 25-14-00253).

1. Nakamura S. *et al.* // J. Antibiot. Series A. – 1965. – V. 18. – No. 1. – P. 47–52.
2. Park S.B. *et al.* // J. Microbiol. Biotechnol. – 2011. – V. 21. – No. 12. – P. 1236–1242.
3. Volynkina I.A. *et al.* // Biochemistry (Moscow). – 2025. – V. 90. – No. 11. – P. 1620–1642.

Разработка протокола получения радиофармацевтического лекарственного препарата на основе ^{161}Tb и моноклональных антител

Грачев А. А.¹, Бурдаков В. С.¹, Гараева Л. А.¹, Касацкий П. С.¹,
Биджиева М. С.^{1,2}, Виноградова Д. С.¹, Верлов Н. А.^{1,3}, Штам Т. А.^{1,3},
Лебедев Д. В.^{1,3}, Коневега А. Л.^{1,2,3}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
Санкт-Петербург, Россия

³ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва,
Россия

grachev_aa@pnpi.nrcki.ru

Несмотря на совершенствование методов диагностики злокачественных новообразований, техники и тактики оперативного удаления опухолей и их метастазов, увеличение количества противоопухолевых лекарственных препаратов с различными механизмами действия, результаты терапии онкологических заболеваний в большинстве случаев остаются на низком уровне. Данная работа посвящена разработке протокола получения в лабораторных условиях радиофармацевтического лекарственного препарата (РФЛП), представляющего собой радиоиммуноконъюгат моноклональных антител и терапевтического изотопа ^{161}Tb .

В ходе работы был получен оптимальный протокол введения в молекулу антител бифункционального хелатора DOTA с использованием его N-гидроксисукцинимидного эфира. Высокая аффинность взаимодействия DOTA с редкоземельными элементами, в том числе тербием, позволяет получать РФЛП с использованием одного этапа синтеза [1, 2]. В ходе работы был разработан протокол синтеза РФЛП с удельной активностью не менее 1 ГБк/мг в лабораторных условиях при околонеutralных значениях pH и температуре 37 °C, что является критически важным при работе с таргетирующими молекулами белковой природы. При этом радиохимический выход реакции составлял не менее 93 %. Было показано, что в ходе всех процедур происходит незначительное снижение аффинности антител к целевой молекуле – антигену. Также с применением технологии нанодифференциальной сканирующей флуориметрии было показано, что и конъюгат антител с хелатором, и РФЛП после синтеза обладают сопоставимой с исходным моноклональным антителом конформационной стабильностью и устойчивостью к агрегации [3]. Полученные опытные серии препарата были протестированы *in vitro*. Препарат обладает высоким дозозависимым цитотоксическим эффектом на клеточные линии, экспрессирующие соответствующую молекулярную мишень.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ 1024011100004-4-1.6.8; 1.6.4; 1.6.7; 1.6.1 «Функциональная и структурная организация сложных, мультикомпонентных биологических систем и их динамика. Молекулярные и клеточные компоненты патогенеза социально-значимых заболеваний»).

1. Müller C. *et al.* // Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag. – 2019. – V. 46. – P. 1919–1930.
2. Grünberg J. *et al.* // Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag. – 2014. – V. 41. – P. 1907–1915.
3. Vinogradova D.S. *et al.* // Nanobiotechn. Rep. – 2024. – V. 19. – Suppl. 1. – P. S202–S209.

Влияние инсулина на экспрессию генов субъединиц NADPH-оксидазы в эндотелиальных клетках микрососудов мыши

Грачева А. И.^{1,2}, Митрошина И. Ю.¹, Дюкина А. Р.¹

¹ Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия

² Пущинский филиал Российского биотехнологического университета, Пущино, Россия

anastasia.grasceva@mail.ru

Сахарный диабет 2-го типа сопровождается инсулинорезистентностью, гипергликемией и окислительным стрессом, что приводит к эндотелиальной дисфункции. Одним из источников активных форм кислорода (в частности, супероксид аниона) в эндотелиальных клетках является трансмембранный ферментный комплекс NADPH-оксидаза 2 (NOX2) [1].

Известно, что инсулин обладает антиоксидантными свойствами [2, 3], но неясно, связано ли его действие с изменением активности NOX2.

Цель работы – оценить изменение уровня экспрессии генов, кодирующих субъединицы NADPH-оксидазы 2, в эндотелиоцитах микрососудов кожи мыши при добавлении инсулина в условиях нормо- и гипергликемии.

Исследование проводили на культуре эндотелиальных клеток, изолированных из микрососудов кожи мыши методом седиментации на градиенте плотности перколла. Клетки инкубировали 24 ч в условиях нормо- (5,5 мМ D-глюкозы) и гипергликемии (22 мМ) с добавлением инсулина (1 нМ) или без него.

Из клеток выделяли тотальную РНК и использовали ее для постановки реакции обратной транскрипции. С помощью ПЦР в реальном времени оценивали уровни экспрессии генов субъединиц NOX2 – *gp91phox* (*Cybb*), *p47phox* (*Ncf1*), *p67phox* (*Ncf2*). Анализ данных проводили методом относительной количественной оценки ($\Delta\Delta C_t$ method). Референсный ген – β -*actin*. Статистическую обработку проводили с помощью U-критерия Манна – Уитни ($p < 0,05$).

При добавлении инсулина было показано, что в условиях нормогликемии достоверно снижалась экспрессия генов *Cybb* и *Ncf2*. В условиях гипергликемии добавление инсулина привело к снижению уровня экспрессии генов всех исследуемых субъединиц.

Полученные результаты позволяют предположить, что антиоксидантный эффект инсулина реализуется в том числе через его влияние на уровни экспрессии генов субъединиц NOX2, снижение которых может опосредовать в том числе изменение генерации активных форм кислорода, потенциально влияя на окислительный стресс в эндотелии при сахарном диабете 2-го типа.

1. Mahmoud A.M., Ali M.M., Miranda E.R. *et al.* Nox2 Contributes to Hyperinsulinemia-Induced Redox Imbalance and Impaired Vascular Function // *Redox Biol.* – 2017. – V. 13. – P. 288–300. – doi: 10.1016/j.redox.2017.06.001.
2. Dandona P., Chaudhuri A., Ghanim H., Mohanty P. Anti-Inflammatory Effects of Insulin and the Pro-Inflammatory Effects of Glucose // *Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery.* – 2006. – V. 4. – No. 18. – P. 293–301. – doi: 10.1053/j.semtcvs.2006.06.003.
3. Gonzalez M., Rojas S., Avila P. *et al.* Insulin Reverses D-Glucose-Increased Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species Generation in Human Umbilical Vein Endothelial Cells // *PLoS One.* – 2015. – V. 10. – No. 4. – P. 1-23. – doi: 10.1371/journal.pone.0122398.

Поиск специализированных партнеров укороченной изоформы белка Dm NXF1 (Nuclear Export Factor 1) *Drosophila melanogaster*

Грудкова Д. М., Голубкова Е. В., Валина А. А.

Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологий, Санкт-Петербург, Россия

st101672@student.spbu.ru

Белок NXF1 – фактор ядерно-цитоплазматического экспорта мРНК, присутствующий у всех организмов группы *Opisthokonta* [1]. Организмы данной группы имеют от двух до пяти паралогов, выполняющих различные тканеспецифичные функции, а у модельного объекта *Drosophila melanogaster* такие функции связаны с альтернативными продуктами экспрессии гена *Dm Nxf1* [2]. Существование интронсодержащих транскриптов гена предполагает наличие различных тканеспецифичных белковых изоформ, потенциально влияющих на состав РНК-комплексов и белков-партнеров [3]. Поэтому основной проблемой в данной области исследования является установление специализированных функций белковых продуктов гена *Dm Nxf1*.

Стоит отметить, что у мутантов по гену РНК-связывающего белка Dm NXF1 наблюдаются аллелеспецифичные фенотипические проявления, в частности нейродегенеративные нарушения структуры головного мозга и нейромышечных контактов взрослых мух дрозофилы [4]. У человека мутации в гене-паралоге *Hs Nxf5* приводят к развитию X-сцепленного фокально-сегментарного гломерулосклероза, блокаде сердца и почечной недостаточности, а также к тяжелой умственной отсталости у мужчин [5]. Таким образом, исследование РНК-связывающих белков на модели *Drosophila melanogaster* может послужить потенциальной моделью в изучении нейродегенеративных заболеваний человека.

Основной задачей исследования является установление белков-партнеров, помимо известного p15, с помощью методов иммунопреципитации белка Dm NXF1 из голов взрослых мух *D. melanogaster*, вестерн-блот-анализа и масс-спектрометрии. В дальнейшем планируется определение типов РНК-мишеней белка Dm NXF1, предположительно мРНК цитоскелетных белков (актин, тубулин), собственных мРНК гена *Dm Nxf1* и его интронсодержащих транскриптов методом ОТ-ПЦР.

1. Serpeloni M., Moraes C.B., Muniz J.R.C. *et al.* An Essential Nuclear Protein in Trypanosomes Is a Component of mRNA Transcription/Export Pathway // PLoS One. – 2011. – V. 6. – No. 6. – P. e20730.

2. Jun L., Frints S., Duhamel H. *et al.* NXF5, a Novel Member of the Nuclear RNA Export Factor Family, Is Lost in a Male Patient with a Syndromic Form of Mental Retardation // *Curr. Biol.* – 2001. – V. 11. – No. 18. – P. 1381–1391.
3. Мамон Л. А., Кливер, С. Ф., Просовская и др. Интрон-содержащий транскрипт – эволюционно-консервативная особенность генов-ортологов nxf1 (nuclear export factor) // *Экол. генет.* – 2013. – Т. 11. – № 3. – С. 3–13.
4. Mamon L.A., Ginanova V.R., Kliver S.F. *et al.* RNA-Binding Proteins of the NXF (Nuclear Export Factor) Family and Their Connection with the Cytoskeleton // *Cytoskeleton.* – 2017. – V. 74. – No. 4. – P. 161–169.
5. Tan W., Zolotukhin A.S., Tretyakova I. *et al.* Identification and Characterization of the Mouse Nuclear Export Factor (Nxf) Family Members // *Nucl. Acids Res.* – 2005. – V. 33. – No. 12. – P. 3855–3865.

Исследование радиосенсибилизирующего потенциала поверхности магнитных наночастиц

Дмитриева А. С.^{1,2}, Лисаевич Н. А.¹, Голубев А. М.¹, Рыжов В. А.¹,
Марченко Я. Ю.¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
Санкт-Петербург, Россия

dmitrieva_as@npi.nrcki.ru

Распространенность онкологических заболеваний обуславливает необходимость поиска новых терапевтических подходов, например, селективно воздействующих на отличия малигнизированных клеток от нормальных. Гиперметаболизм и высокая скорость пролиферации приводят к повышенному уровню активных форм кислорода (АФК) в раковых клетках. Внешнее воздействие, повышающее уровень АФК, ведет к преодолению порога антиоксидантной защиты клетки и индукции ее гибели. Для достижения положительного терапевтического эффекта при онкотерапии часто используют ионизирующее излучение, повышающее уровень АФК за счет радиолиза воды. Для снижения дозовой нагрузки применяют радиосенсибилизаторы. В настоящей работе рассматриваются магнитные наночастицы (МНЧ), поверхность которых может служить источником ионов Fe^{2+} для протекания реакции Фентона [1].

МНЧ синтезировали методом преципитации солей железа (II) и (III) в щелочной среде. Для определения нетоксичной для клеток концентрации МНЧ совместно инкубировали с клетками GI-Tr в диапазоне концентраций 5–200 мкг/мл. Метаболическую активность клеток оценивали методом с резазуриновым красителем. Для оценки выживаемости клетки красили кристаллическим фиолетовым и подсчитывали количество колоний. Клетки GI-Tr инкубировали с МНЧ в течение 24 ч, затем облучали рентгеном (2, 4 и 6 Гр). В сравнительных экспериментах применяли МНЧ с декстрановым покрытием.

Магнитные наночастицы без покрытия не оказывали цитотоксичного действия при концентрации 5 мкг/мл. Максимальный радиосенсибилизирующий эффект от этих частиц достигался при дозе 4 Гр и составлял 11 %. Для МНЧ с декстрановым покрытием (100 мкг/мл) максимальный радиосенсибилизирующий эффект составлял 7 %. Приведенные данные позволяют рассматривать поверхность МНЧ в качестве важного фактора, инициирующего окислительный каскад, позволяющий более эффективно повреждать малигнизированные клетки.

1. Tran N.H. *et al.* // IJMS. 15150, 24 (20) (2023).

Анализ ранних генов бактериофага 9g

Дмитриева М., Рассадина С. Ю., Курдюмова И. В., Антонова Д. А.

Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
Санкт-Петербург, Россия

maryamdmitrieva@gmail.com

Распространение антибиотикорезистентности среди бактерий создает угрозу для глобального здравоохранения и требует поиска новых антимикробных агентов. Особый интерес представляют ранние фаговые белки, не имеющие гомологов и влияющие на клеточный рост [1, 2]. Целью данного исследования являлась оценка влияния экспрессии генов ранних белков бактериофага 9g *Escherichia coli* [3] на морфологию и жизнеспособность бактериальных клеток методом флуоресцентной микроскопии. Два ранних гена бактериофага 9g были клонированы в шаттл-вектор pHERD20T, содержащий промотор под контролем арабинозного оперона. Клетки, трансформированные полученными плазмидами, культивировали при 37 °С в присутствии селективного антибиотика до достижения оптической плотности OD600 = 0,6, после чего переносили на агарозные подложки, содержащие флуоресцентный ДНК-краситель DAPI и пропидиум йодид (PI), окрашивающий мертвые клетки, в присутствии индуктора (арабинозы) и без него. В качестве контроля использовали клетки, трансформированные плазмидой pHERD20T без вставки раннего фагового гена. Съемку проводили каждые 30 мин при 37 °С в течение не менее 8 ч. Для каждого образца было проанализировано не менее 100 клеток. Экспрессия одного из исследуемых генов сопровождалась компактизацией бактериальной ДНК в виде множественных очагов и выраженным удлинением клеток, что может свидетельствовать о нарушении процессов репликации и деления, тогда как экспрессия второго гена приводила преимущественно к удлинению клеток и почти полному прекращению деления. Доля нежизнеспособных клеток спустя более 8 ч после индукции экспрессии достигала около 28 и 65 % для каждого из двух генов соответственно, а без индукции – около 19 и 41 %. В контрольных клетках уровень смертности не превышал 1 % вне зависимости от присутствия индуктора. Результаты демонстрируют перспективность дальнейших исследований ранних фаговых белков как источника новых антимикробных соединений.

Исследование выполнено при поддержке РФФ, грант № 24-44-02003.

1. De Smet J., Hendrix H., Blasdel B.G. *et al.* Pseudomonas Predators: Understanding and Exploiting Phage–Host Interactions // Nat. Rev. Microbiol. – 2017. – V. 15. – P. 517–530.

2. Wagemans J., Delattre A.S., Uytterhoeven B. *et al.* Antibacterial Phage ORFans of *Pseudomonas Aeruginosa* Phage LUZ24 Reveal a Novel MvaT Inhibiting Protein // *Front. Microbiol.* – 2015. – V. 6. – Art. No. 1242. – P. 1–10.
3. Kulikov E.E., Golomidova A.K., Letarova M.A. *et al.* Genomic Sequencing and Biological Characteristics of a Novel *Escherichia coli* Bacteriophage 9g, a Putative Representative of a New *Siphoviridae* Genus // *Viruses.* – 2014. – V. 6. – No. 12. – P. 5077–5092.

Оценка экспрессии гена и уровня белка МхА в клинических образцах крови пациентов с ОРИ

Добровольская О. А.¹, Дав П. Н.^{1,2}, Сорокин Е. В.¹, Соколов А. В.¹,
Елпаева Е. А.^{1,2}, Васин А. В.^{1,2}

¹ Научно-исследовательский институт гриппа им. А. А. Смородинцева,
Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
Санкт-Петербург, Россия

Dobrovolskay-oly@yandex.ru

Острые респираторные инфекции (ОРИ) являются серьезной проблемой для мирового здравоохранения. Точная диагностика патогена важна для эффективной терапии и предотвращения избыточного назначения антибиотиков [1]. Необходимо изучение перспективных биомаркеров инфекционных заболеваний для их использования в составе тест-систем для дифференциации вирусных и бактериальных патогенов. Так, белок МхА человека может служить биомаркером при острых вирусных заболеваниях [2].

В рамках данной работы была сформирована коллекция клинических образцов пациентов с ОРИ различной этиологии. Для этого в период 2024–2025 гг. были обследованы 200 пациентов для выявления возбудителей ОРИ человека методом ПЦР. На основании выявленного патогена были определены четыре группы пациентов:

- 1) с вирусной инфекцией,
- 2) с бактериальной инфекцией,
- 3) с сочетанной вирусно-бактериальной инфекцией,
- 4) с недиагностированной инфекцией.

В качестве группы сравнения были использованы образцы от добровольцев без клинических признаков инфекционного заболевания.

Была проведена оценка уровня экспрессии гена *mxa* в пробах РВМС методом ПЦР в реальном времени. По результатам исследования показано достоверное увеличение экспрессии гена *mxa* в группе пациентов с вирусными заболеваниями по сравнению со здоровыми добровольцами, также показана статистически достоверно повышенная экспрессия гена *mxa* в группах пациентов с вирусными заболеваниями и с сочетанными инфекциями по сравнению с группой пациентов с бактериальными инфекциями.

Далее была проведена оценка уровня белка МхА в образцах цельной крови пациентов методом ИФА с использованием коммерческого набора. По результатам исследования показано, что концентрация белка МхА в образцах пациентов с вирусными и сочетанными инфекциями достоверно выше, чем у пациентов с бактериальными инфекциями.

Таким образом, была показана перспективность использования белка МхА как одного из биомаркеров в составе тест-систем для дифференциальной диагностики ОРИ.

1. Carlton H.C., Savović J., Dawson S. *et al.* // Clin. Microbiol. Infect. 2021; 27 (8): 1096–1108.
2. Rhedin S., Eklundh A., Ryd-Rinder M. *et al.* // Clin. Microbiol. Infect. 2022; 28 (9): 1251–1257.

Влияние световой депривации на среднесрочную память у линий дрозофилы *Canton-S* и *cardinal*

Егозова Е. С.¹, Никитина Е. А.^{1,2}

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

² Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: ekaterina_egozova@mail.ru

Развитие заболеваний, сопровождающихся когнитивным дефицитом, связано с комплексным взаимодействием эндогенных метаболических нарушений и внешних факторов. Одним из эндогенных триггеров является нарушение кинуренинового пути обмена триптофана (КПОТ), что приводит к снижению антиоксидантной защиты и аккумуляции нейротоксинов [1]. Важным экзогенным фактором служит десинхронизация циркадных ритмов, провоцирующая развитие окислительного стресса, который усугубляет дисфункцию КПОТ [2, 3]. Для исследования механизмов данных процессов применяют животные модели, в том числе дрозофилу. В настоящей работе использовали мух дикого типа *Canton-S*, а также мутантную линию *cardinal* с нарушением КПОТ и патологическим накоплением 3-гидроксикинуренина.

Цель исследования – изучить формирование и динамику изменения среднесрочной памяти (ССП) в условиях темноты у линии дрозофилы *Canton-S* (*CS*) и *cardinal* (*cd*).

Обучение и формирование СПП оценивали методом условно-рефлекторного подавления ухаживания (УРПУ). Перед тестированием мух содержали при трех световых режимах: стандартном (12 ч света, 12 ч темноты) и в условиях световой депривации в течение 24 и 48 ч. Способность к обучению и формированию СПП оценивали с помощью индекса обучения (ИО) на временных интервалах 0 и 3 ч. Статистическую обработку проводили двусторонним тестом рандомизации ($p < 0,05$).

Исследование показало, что ИО мух линии *CS* снижались на всех временных интервалах, достигая отрицательного значения через 3 ч после обучения при 24-часовом пребывании в темноте. Наблюдались статистически значимые различия с контрольными группами (0 и 3 ч). У мух линии *cd* темнота не повлияла на обучение: ИО не отличались от контроля.

Полученные данные указывают на то, что световая депривация нарушает СПП у дрозофилы дикого типа *CS*, тогда как мутантная линия *cd* сохраняет когнитивные функции, несмотря на нарушение КПОТ. Это может свидетельствовать о компенсаторных механизмах, повышающих устойчивость к стрессору при хроническом окислительном дисбалансе.

1. Martins L.B., Silveira A.L.M., Teixeira A.L. The Involvement of Kynurenine Pathway in Neurodegenerative Diseases // *Curr. Neuropharmacol.* 2023; 21 (2): 260–272. doi: 10.2174/1570159X20666220922153221. PMID: 36154606; PMCID: PMC10190152.
2. Leng Y., Musiek E.S., Hu K. *et al.* Association between Circadian Rhythms and Neurodegenerative Diseases // *Lancet Neurol.* 2019; 18 (3): 307–318. doi: 10.1016/S1474-4422(18)30461-7. PMID: 30784558; PMCID: PMC6426656.
3. Журавлев А. В. Роль кинуренинов в регуляции поведения и процессов памяти у дрозофилы // *Интеграт. физиол.* 2020; 1 (1): 40–50. doi: 10.33910/2687-1270-2020-1-1-40-50. EDN GGDDHZ.

Экспрессия гена модифицированной кутиназы из *Aurebasidium pullulans* в метилотрофных дрожжах *Komagataella phaffii*

Ермилов Ф. К., Журишкина Е. В., Энейская Е. В., Кульминская А. А.,
Сизова И. А.

НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

ermilov_fk@npi.nrcki.ru

Кутиназы (К. Ф. 3.1.1.74) – ферменты семейства α/β -гидролаз (20–25 кДа), гидролизующие сложноэфирные связи в природных и синтетических полиэфирах. Благодаря активному центру, обращенному к растворителю, они обладают широкой субстратной специфичностью и применяются в различных отраслях, в том числе как перспективные биокатализаторы деградации синтетических полиэфиров. В условиях роста производства пластмасс особый интерес представляет их способность гидролизовать поликапролактон (ПКЛ).

В ходе скрининга мицелиальных грибов из коллекции НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ был выявлен штамм *Aurebasidium pullulans* ВКМ1116, способный к деградации ПКЛ. После идентификации гена *ApCUT1* и выравнивания его аминокислотной последовательности с высокоактивной кутиназой CLE1 из *Cryptococcus sp.* были внесены мутации, предположительно повышающие каталитическую активность фермента.

Гены дикого типа и мутантных вариантов *ApCUT1* были клонированы в интеграционные векторы и экспрессированы в клетках *Komagataella phaffii*. Отбор многокопийных клонов осуществляли на среде с высоким содержанием зеоцина (1 000 мкг/мл). Однако с целью повышения экологической безопасности были получены безмаркерные продуценты с использованием экспрессионных кассет, содержащих маркер прототрофности HIS4. Для эффективного отбора многокопийных клонов была разработана репортерная система на основе субстрата флуоресцеин-бутирата, позволившая получить штаммы с более высоким уровнем продукции белка (100 мг/л) по сравнению с зеоцин-резистентными клонами (60 мг/л).

Биохимическую активность рекомбинантных белков оценивали с использованием модельного субстрата pNMSEH и поликапролактона. Показано, что одна из аминокислотных замен (Y58W) существенно повышает каталитическую активность в отношении ПКЛ и выход целевого белка.

1. Kodama Y., Masaki K., Kondo H. *et al.* Crystal Structure and Enhanced Activity of a Cutinase-Like Enzyme from *Cryptococcus sp.* Strain S-2 // *Proteins*. 2009; 77 (3): 710–717. doi: 10.1002/prot.22484.

Пациент-специфичные модели полиглутаминовых заболеваний: поиск мишеней для превентивной коррекции нарушений

Ерошенко М. Н., Грехнев Д. А., Новикова Ю. В., Казначеева Е. В., Вигонт В. А.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

mni15996@gmail.com

Нейродегенеративные заболевания сопровождаются прогрессирующим ухудшением когнитивных и моторных функций в результате гибели специфических популяций нейронов. Современные терапевтические подходы преимущественно направлены на постманифестную стадию заболевания, для которой характерна утрата большей части высокоуязвимых нейронов. Данная стратегия значительно ограничивает их эффективность и подчеркивает необходимость поиска мишеней для досимптоматической терапии. Одним из таких механизмов является кальциевая сигнализация, регулирующая синаптическую активность, клеточный метаболизм и апоптоз. Ранние нарушения гомеостаза Ca^{2+} могут возникать до структурной нейродегенерации, делая их ключевые компоненты перспективными кандидатами для превентивного воздействия.

Наши исследования показали, что при болезни Хантингтона (БХ) и спиноцеребеллярной атаксии 17-го типа (СЦА17) наблюдается увеличение депоуправляемого входа кальция (SOCE) в срединных шипиковых нейронах стриатума (MSNs) – клетках, одних из наиболее уязвимых при данных патологиях. В то же время в дофаминергических нейронах (DNs), дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов, SOCE сохранялся на уровне контроля [1].

В рамках данной работы проведена направленная дифференцировка ИПСК пациентов с БХ и СЦА17, а также здоровых доноров, в MSNs и DNs с последовательным анализом SOCE в процессе дифференцировки для определения момента возникновения Ca^{2+} -дисрегуляции.

Мы показали, что выраженное увеличение SOCE в БХ- и СЦА17-специфичных MSNs характерно для зрелых нейронов и не наблюдается на ранних этапах дифференцировки. Для проведения превентивной коррекции SOCE мы использовали ингибиторы SM4620 и производные 1,2,3,4-дифталазида [2] на стадии нейранальных предшественников до момента получения зрелых терминально дифференцированных MSNs. Эти вещества продемонстрировали способность нормализовать повышенный депоуправляемый вход кальция в зрелых MSNs при БХ и СЦА17.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 25-15-00165.

1. Vigont V.A., Grekhnev D.A. *et al.* STIM2 Mediates Excessive Store-Operated Calcium Entry in Patient-Specific iPSC-Derived Neurons Modeling a Juvenile Form of Huntington's Disease // *Front. Cell Dev. Biol.* (2021).
2. Grekhnev D.A., Novikova I.V. *et al.* Dithiadiazole Derivative 3-(4-Nitrophenyl)-5-Phenyl-3H-1,2,3,4-Dithiadiazole-2-Oxide – Novel Modulator of Store-Operated Calcium Entry // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2022).

Повышение относительного уровня мономерного альфа-синуклеина в эритроцитах периферической крови пациентов с болезнью Паркинсона

Журавлев А. С.^{1,2}, Пидюрчина В. Н.¹, Лавринова А. О.^{1,2}, Крапова А. К.¹, Милюхина И. В.³, Беркович О. А.², Пчелина С. Н.^{1,2}, Емельянов А. К.^{1,2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

³ Институт мозга человека им. Н. П. Бехтеревой РАН, Санкт-Петербург, Россия

zhuravlev_as@pmpi.nrcki.ru

Болезнь Паркинсона (БП) и мультисистемная атрофия (МСА) входят в группу нейродегенеративных заболеваний, называемых синуклеинопатиями, которые характеризуются образованием включений, содержащих альфа-синуклеин, кодируемый геном *SNCA*, в селективных популяциях нейронов и клетках глии. Роль данного белка в патогенезе синуклеинопатий многократно показана. Обнаружено, что помимо головного мозга альфа-синуклеин также содержится в клетках крови, из которых на долю эритроцитов приходится до 98 % данного белка [1].

Целью настоящей работы была оценка уровня общего альфа-синуклеина в эритроцитах периферической крови у пациентов с БП, МСА и лиц контрольной группы.

Для проведения исследования был создан банк эритроцитов периферической крови пациентов с БП ($N = 36$, средний возраст $61,3 \pm 12,1$ года 11 мес.) и МСА ($N = 34$, средний возраст $59,8 \pm 6,4$ года 10 мес.), а также индивидуумов контрольной группы ($N = 24$, средний возраст $59,6 \pm 10,1$ года 8 мес.). Оценка уровня общего альфа-синуклеина в лизатах эритроцитов периферической крови, подвергшихся процедуре удаления гемоглобина и термообогащения [2], проводилась методом вестерн-блоттинга.

Было обнаружено статистически значимое повышение относительного уровня мономерного альфа-синуклеина в лизатах эритроцитов периферической крови пациентов с БП ($1,73 [0,85 \div 3,82]$) относительно контроля ($0,60 [0,20 \div 2,27]$, $p = 0,0004$).

Таким образом, можно предположить, что БП характеризуется повышением уровня мономерного альфа-синуклеина в эритроцитах периферической крови.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500037-7-1.6.8; 1.6.1; 1.6.2; 1.6.3 «Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза

социально-значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения»).

1. Barbour R. *et al.* Red Blood Cells Are the Major Source of Alpha-Synuclein in Blood // *Neurodegen. Diseas.* 2008; 5 (2): 55–59.
2. Vicente M.H. *et al.* Posttranslational Modifications of Blood-Derived Alpha-Synuclein as Biochemical Markers for Parkinson's Disease // *Sci. Rep.* 2017; 7 (1): 13713.

**Морфологический анализ мальпигиевых сосудов у самцов
Drosophila melanogaster с мутацией в гене *swiss cheese***

Зобнина Е. А., Иванова Е. А., Рябова Е. В., Саранцева С. В.

НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

elenazobnina3@gmail.com

Мутации в гене *PNPLA6* человека, который экспрессируется в различных тканях и органах и кодирует высококонсервативную фосфолипазу [1], приводят к развитию спастической параплегии и нейродегенерации, а также связаны с нарушениями работы желудочно-кишечного тракта, включая дисфункцию желудочно-кишечной моторики [2].

Ортологом *PNPLA6* у *Drosophila melanogaster* является ген *swiss cheese* (*sws*). При нарушении функций гена у мух наблюдается обширная нейродегенерация, а в пищеварительной системе нарушается целостность кишечного барьера, изменяется состав микробиоты и метаболизм липидов [1, 3]. Экспрессия *sws* также наблюдается в других органах, включая мальпигиевы сосуды.

Мальпигиевы сосуды – ключевой орган выделительной системы дрозофилы – являются функциональным аналогом почек человека и отвечают за выведение продуктов обмена и поддержание ионно-водного баланса гемолимфы. Они образованы основными и звездчатыми клетками. Между клетками находятся септированные контакты, которые структурно и функционально сходны с плотными контактами позвоночных и участвуют в избирательном транспорте веществ.

В данной работе был проведен морфологический анализ мальпигиевых сосудов самцов *D. melanogaster* с мутацией в гене *sws* (*sws*¹) и самцов дикого типа (*Canton S*) в качестве контроля. Была измерена длина сосудов, диаметр ядер и выполнена иммунофлуоресцентная визуализация септированных контактов. Результаты показали, что у мутантов не визуализируются септированные контакты, увеличены длина и диаметр ядер в клетках мальпигиевых сосудов.

1. Ivanova E.A., Ryabova E.V., Komissarov A.E. *et al.* *Swiss Cheese Gene Is Important for Intestinal Barrier, Microbiome, and Lipid Metabolism Regulation in Drosophila Gut* // *Int. J. Mol. Sci.* 11085, 26 (2025).
2. Kanavin Ø.J., Fjermestad K.W. *Gastrointestinal and Urinary Complaints in Adults with Hereditary Spastic Paraparesis* // *Orphanet. J. Rare Dis.* 58, 13 (2018).
3. Melentev P.A. *et al.* *Drosophila Lysophospholipase Gene Swiss Cheese Is Required for Survival and Reproduction* // *Insects.* 14, 13 (2022).

Влияние структурной оптимизации флагеллина *Borrelia* на его адъювантные свойства и взаимодействие с TLR5

Ивановский А. С., Тюленев А. А., Тимофеев В. И., Марченкова М. А.,
Писаревский Ю. В., Трашков А. П.

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва,
Россия

a.1wanowskiy@gmail.com

Флагеллин, являющийся основным структурным белком бактериального жгутика [1], относится к классу патоген-ассоциированных молекулярных паттернов и выступает естественным агонистом толл-подобного рецептора 5 (TLR5), что обуславливает его выраженные адъювантные свойства [2]. В настоящей работе флагеллин *Borrelia burgdorferi* (UniProt: P11089) рассматривается как иммуномодулирующий компонент вакцинных платформ.

С использованием методов иммуноинформатики был проведен анализ аминокислотной последовательности флагеллина, показавший наличие консервативных Т- и В-клеточных эпитопов и высокий общий иммуногенный потенциал белка. Одновременно с этим алгоритмом AllerTOP v2.0 были идентифицированы два потенциально аллергенных участка (121–147 и 157–169 а. о.), локализованные в центральном домене белка. С целью снижения аллергенности указанные регионы были подвергнуты делеции *in silico*.

Пространственные структуры нативного и модифицированного флагеллина были предсказаны с применением AlphaFold3. Молекулярно-динамическое моделирование изолированных белков (200 нс, GROMACS-2023, физиологические условия) показало, что удаление аллергенных участков не приводит к значимой дестабилизации структуры. Параметры среднеквадратичных отклонений, флуктуаций аминокислотных остатков и радиуса гирации для модифицированного варианта после фазы релаксации сопоставимы с нативным белком, что указывает на сохранение структурной целостности конструктора.

Ключевым этапом исследования стала оценка влияния сделанной структурной модификации на взаимодействие флагеллина с TLR5. Молекулярный докинг и последующее молекулярно-динамическое моделирование комплексов «флагеллин – TLR5» выявили существенные различия в их стабильности. Комплекс нативного флагеллина с TLR5 демонстрировал устойчивое поведение на протяжении всей траектории моделирования, тогда как модифицированный вариант характеризовался повышенными конформационными флуктуациями, отсутствием плато среднеквадратичного отклонения и выраженной компактизацией комплекса.

Полученные данные указывают на функциональную значимость удаленных участков для формирования или стабилизации интерфейса связывания с рецептором либо для поддержания конформации, необходимой для эффективной TLR5-активации.

Таким образом, результаты работы демонстрируют, что снижение аллергенности флагеллина путем делеции отдельных участков является структурно допустимым, однако может сопровождаться нарушением его адьювантной функции вследствие дестабилизации комплекса с TLR5. Полученные данные подчеркивают необходимость обязательной валидации белок-рецепторных взаимодействий при рациональном дизайне адьювантов на основе PAMP и формируют основу для дальнейшей направленной оптимизации флагеллиновых конструкций.

Работа проведена в рамках соглашения № 075-15-2025-012 о предоставлении из федерального бюджета гранта в форме субсидии в целях реализации научного проекта под руководством привлекаемого ведущего ученого в части предсказания эпитопов, а также анализа иммуногенности и токсичности и в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» в части проведения расчетов молекулярной динамики. Работа выполнена с использованием оборудования центра коллективного пользования «Комплекс моделирования и обработки данных исследовательских установок мегакласса» НИЦ «Курчатовский институт», <http://ckp.nrcki.ru/>.

1. Pengpeng Xia, Siqi Lian, Jiaqi Liu *et al.* Flagellin: A Crucial Virulence Factor Coordinating Bacterial Pathogenesis and Host Immune Responses // *Anim. Zoonos.* 2025, ISSN 2950–2489. <https://doi.org/10.1016/j.azn.2025.09.001>.
2. Mardanova E.S., Ravin N.V. Flagellin as a Versatile Adjuvant Platform: Genetic Fusion Approaches for Next-Generation Vaccines // *Int. J. Mol. Sci.* 2025, 26, 10295. <https://doi.org/10.3390/ijms262110295>.

Таксономический и метаболический анализ микробных сообществ верхних термальных источников Кармадонского ущелья

Изотова А. О., Тоцаков С. В.

Курчатовский геномный центр Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Москва, Россия

anu.izotova@mail.ru

Горячие источники Верхнего Кармадона представляют уникальную малоизученную термальную экосистему. Источники характеризуются высокой температурой (50–59 °С) и высокой минерализацией [1]. Проведенный ранее элементный анализ воды источников показал высокие концентрации мышьяка, бора и ряда редкоземельных элементов [2]. Вплоть до недавнего времени исследования микробных сообществ этих источников не проводились. В данной работе была проведена комплексная характеристика структуры и метаболического потенциала микробиоты Кармадонских источников при помощи *shotgun*-метагеномики.

Проведено метагеномное секвенирование проб воды и осадков источников. На основе полученных данных были проведены ко-сборка метагенома источников и реконструкция отдельных MAG (Metagenome-Assembled Genomes) с использованием метагеномного биннинга. При помощи анализа основных метаболических путей отдельных MAG была проведена реконструкция метаболических сетей сообщества.

Из 96 полученных MAG 38 соответствовали критериям высокого качества (полнота более 90 %, контаминация менее 5 %). Доминирующими филумами оказались *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Planctomycetes* и *Actinobacteria*. Получены MAG новых некультивируемых таксонов высокого ранга, в том числе порядка RBS10-35 (*Firmicutes_E*), семейства *Geminicoccaceae* и семейства UBA7541 (порядок *Acidoferrales*). Показано, что представители порядка RBS10-35 обеспечивают более 50 % фиксации углерода при помощи цикла Кальвина. Важной особенностью экосистемы является роль арсената как акцептора электронов наряду с серой и железом.

Таким образом, впервые при помощи методов современной метагеномики охарактеризованы основные метаболические пути уникальных микробных сообществ Кармадонского ущелья и выделены ключевые таксоны, формирующие функциональное ядро сообщества и ответственные за основные биогеохимические процессы.

1. Дзгоев У. С. Курорт Кармадон. – Орджоникидзе: Северо-Осетинское книжное издательство, 1961. – 84 с.

2. Toshchakov S.V., Izotova A.O., Vinogradova E.N. *et al.* Culture-Independent Survey of Thermophilic Microbial Communities of the North Caucasus // *Biology*. 2021; 10 (12): 1352.

Роль внеклеточных везикул жировой ткани в воспалении при ожирении и сахарном диабете 2-го типа

Изыумченко А. Д.^{1,2}, Грунина М. Н.^{1,2}, Драчева К. В.², Анисимова К. А.²,
Берулава Е. Т.², Гараева Л. А.¹, Гапоненко И. Н.², Баландов С. Г.²,
Василевский Д. И.², Пчелина С. Н.^{1,2}, Мирошникова В. В.^{1,2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

izyumchenko_ad@npi.nrcki.ru

Сахарный диабет 2-го типа (СД2) является значимым сопутствующим осложнением при ожирении и развивается вследствие хронического воспаления жировой ткани (ЖТ). Секретируемые клетками ЖТ внеклеточные везикулы (ВВ) рассматриваются как важное звено в распространении воспаления ввиду их вовлеченности в межклеточную коммуникацию. Состав ВВ ЖТ и уровень их секреции меняются при ожирении [1, 2]. ВВ ЖТ могут оказывать влияние на иммунные клетки, такие как макрофаги и Т-лимфоциты (Трег), регулируя экспрессию генов и секрецию цитокинов.

Цель работы – оценить влияние ВВ ЖТ пациентов с ожирением и СД2 на экспрессию генов в макрофагах и регуляторных Т-лимфоцитах.

Образцы висцеральной и подкожной ЖТ (ВЖТ и ПЖТ) получали во время проведения бариатрических (пациенты с ожирением и СД2 $n = 26$) и плановых (группа лиц без ожирения $n = 15$) операций на брюшной полости. Первичную культуру макрофагов/Трег получали путем дифференцировки моноцитов/CD4+ Т-клеток здоровых доноров и культивировали в присутствии ВВ ЖТ. Уровни мРНК генов оценивали с помощью ПЦР в реальном времени. Концентрацию цитокинов в культуральной среде определяли методом иммуноферментного анализа.

Показано, что воздействие ВВ как ВЖТ, так и ПЖТ пациентов с ожирением и СД2 на культуру макрофагов приводило к выраженному снижению экспрессии гена *PPARG*, что характерно для активации провоспалительной поляризации. Снижение экспрессии гена *PPARG* в ЖТ при ожирении и СД2 было показано ранее разными авторами и, вероятно, имеет важное значение в патогенезе СД2 [3, 4]. При этом транскрипционный фактор PPAR γ важен для созревания тканеспецифичных Трег [5]. Исследование Трег показало, что ВВ ВЖТ независимо от происхождения (СД2, контроль) снижали уровень секреции IL10, что может быть критичным при ожирении и проявляться в снижении противовоспалительного потенциала Трег при разрастании ВЖТ. Таким образом, ВВ ЖТ играют важную роль в развитии воспаления ЖТ при ожирении и СД2.

Источник финансирования: госзадание Минобрнауки России (тема № 1023031500037-7-1.6.8; 1.6.1; 1.6.2; 1.6.3).

1. Dracheva K.V., Pobozeva I.A. *et al.* Downregulation of Exosomal Hsa-MiR-551b-3p in Obesity and Its Link to Type 2 Diabetes Mellitus // *Non-coding RNA*. 9 (6), 67 (2023).
2. Matilainen J., Berg V. *et al.* Increased Secretion of Adipocyte-Derived Extracellular Vesicles Is Associated with Adipose Tissue Inflammation and the Mobilization of Excess Lipid in Human Obesity // *J. Transl. Med.* 22 (1), 623 (2024).
3. Panteleeva A.A., Razgildina N.D. *et al.* The Expression of Genes Encoding ABCA1 and ABCG1 Transporters and PPAR γ , LXR β , and ROR α Transcriptional Factors in Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue in Women with Metabolic Syndrome // *Mol. Biol.* 55 (1), 56–65 (2021).
4. Mishra B.K., Banerjee B.D. *et al.* Association of PPAR γ Gene Expression with Postprandial Hypertriglyceridaemia and Risk of Type 2 Diabetes Mellitus // *Endocrine*. 68 (3), 549–556 (2020).
5. Jacks R.D., Lumeng C.N. Macrophage and T Cell Networks in Adipose Tissue // *Nat. Rev. Endocrin.* 20 (1), 50–61 (2024).

Структурное исследование комплекса тяжелоцепочечного антитела А3.2-Fc с неактивной формой токсина В *Clostridioides difficile*

Илясов И. О.^{1,2}, Алексеева И. А.¹, Баймухаметов Т. Н.³, Бурцева А. Д.²,
Фаворская И. А.¹, Попов В. О.^{2,3}, Случанко Н. Н.^{1,2}, Бойко К. М.^{1,2},
Щебляков Д. В.¹

¹ Научный центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи
Минздрава России, Москва, Россия

² Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы
биотехнологии» РАН, Москва, Россия

³ Курчатовский комплекс НБИКС-природоподобных технологий
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»,
отдел структурной биологии, Москва, Россия

i.ilyasov@inbi.ras.ru

Clostridioides difficile-ассоциированная инфекция (CDI) является одной из самых распространенных внутрибольничных инфекций и основной причиной антибиотик-ассоциированной диареи. Ее проявления варьируются от легкой диареи до опасных для жизни состояний, таких как токсический мегаколон и перфорация кишечника. Разработка новых терапевтических средств против CDI остается важной медицинской задачей [1, 2].

Известно, что уровни сывороточных антител к ключевым факторам патогенности, токсинам – А и В – снижают тяжесть первичной CDI и вероятность появления рецидива [3–5]. В связи с этим иммунотерапия является перспективным методом лечения CDI. Одним из возможных направлений здесь может стать использование тяжелоцепочечных антител, найденных у представителей семейства *Camelidae*, которые лишены легких цепей и обладают рядом преимуществ по сравнению с обычными антителами [6].

Ранее нами была получена панель однодоменных антител к токсину В, среди которых клон А3.2 оказался одним из самых активных в подавлении цитотоксического действия токсина В. С целью картирования эпитопа и изучения деталей взаимодействия А3.2-Fc с токсином В методом криоэлектронной микроскопии (криоЭМ) была получена структура комплекса этого антитела с неактивной формой токсина В *Clostridioides difficile* штамма 630. На основании полученных данных была проведена реконструкция структуры комплекса. На полученной КриоЭМ-карте детализируется структурная организация токсина В, состоящего из четырех доменов: N-концевого гликозилтрансферазного домена, аутопротеазного домена, домена доставки и C-концевого домена CROPs [7]. По данным анализа структуры эпитоп антитела А3.2-Fc локализован на гликозилтрансферазном домене, отвечающем за реализацию цитотоксического

действия. Полученные данные позволили идентифицировать остатки, участвующие в образовании эпитопа, и провести детальный анализ интерфейса взаимодействия.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда 23-74-30004.

1. Durovic A., Widmer A.F., Tschudin-Sutter S. New Insights into Transmission of *Clostridium Difficile* Infection—Narrative Review // Clin. Microbiol. Infect. – 2018. – V. 24. – No. 5. – P. 483–492.
2. Cymbal M. *et al.* Management of *Clostridioides Difficile* Infection: Diagnosis, Treatment, and Future Perspectives // Amer. J. Med. – 2024. – V. 137. – No. 7. – P. 571–576.
3. Leav B.A. *et al.* Serum Anti-Toxin B Antibody Correlates with Protection from Recurrent *Clostridium Difficile* Infection (CDI) // Vaccine. – 2010. – V. 28. – No. 4. – P. 965–969.
4. Kyne L. *et al.* Association between Antibody Response to Toxin A and Protection Against Recurrent *Clostridium Difficile* Diarrhoea // The Lancet. – 2001. – V. 357. – No. 9251. – P. 189–193.
5. Wullt M. *et al.* IgG Antibody Response to Toxins A and B in Patients with *Clostridium Difficile* Infection // Clin. Vaccine Immun. – 2012. – V. 19. – No. 9. – P. 1552–1554.
6. Conrath K.E. *et al.* Emergence and Evolution of Functional Heavy-Chain Antibodies in Camelidae // Dev. Comp. Immunol. – 2003. – V. 27. – No. 2. – P. 87–103.
7. Aktories K., Schwan C., Jank T. *Clostridium Difficile* Toxin Biology // Ann. Rev. Microbiol. – 2017. – V. 71. – P. 281–307.

Роль генов *nhmC* и *nhmD* в мочевинозависимой регуляции высокоактивного промотора P_{nh} из *Rhodococcus rhodochrous*

Исаева С. М.¹, Шемякина А. О.¹, Лавров К. В.¹, Яненко А. С.¹

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

sofya.m.isaeva@gmail.com

Бактерии рода *Rhodococcus* обладают высоким биотехнологическим потенциалом благодаря способности к катализу различных биотрансформаций. Конструирование промышленных штаммов-биокатализаторов основано на использовании регулируемых промоторов. Одним из наиболее перспективных является промотор нитрилгидратазы (P_{nh}) из штамма *Rhodococcus rhodochrous* M8 [1], активность которого в присутствии генов *nhmCD* индуцируется добавлением в среду мочевины [2] – дешевого, доступного и нетоксичного индуктора.

Целью данной работы является исследование вклада генов *nhmC* и *nhmD* в мочевинозависимую регуляцию активности промотора P_{nh} и определение механизма действия этих регуляторов.

В работе использовались сконструированные плазмиды *pRY3-nhmC-P_{nh}-aam* и *pRY3-nhmD-P_{nh}-aam*, в которых находились регуляторы по отдельности. Также применялась ранее сконструированная плаزمида *pRY3-nhmCD-P_{nh}-aam* [3] с обоими генами-регуляторами. В качестве репортера использовалась ациламидаза (*aam*) из *R. erythropolis* TA37 [4]. Плазмиды были введены в производный от *R. rhodochrous* M8 штамм *R. rhodochrous* M33Δ, в геноме которого отсутствуют изучаемые элементы. Активность промотора оценивали по уровню ациламидазной активности, выращенных в присутствии и отсутствии мочевины.

Максимум активности фиксировался в логарифмической фазе роста культуры. Показано, что ациламидазная активность штамма с одиночным геном *nhmC* не изменялась при добавлении мочевины в среду и оставалась конститутивно высокой (12,2 и 12,7 мкмоль/(мин · мг свк) с мочевиной и без соответственно). Этот уровень приближается к уровню активности штамма с обоими генами-регуляторами, выращенному на мочеvine (10,3 мкмоль/(мин · мг свк)). В свою очередь, в штамме с одним геном *nhmD* показано почти полное подавление репортерной активности (0,01–0,02 мкмоль/(мин · мг свк)). При совместной экспрессии *nhmCD* наблюдались низкий базальный уровень и выраженное повышение активности в присутствии мочевины (10,3 и 1,9 мкмоль/(мин · мг свк) с мочевиной и без, пятикратное повышение активности).

Полученные данные свидетельствуют о том, что *nhmD* действует как отрицательный регулятор P_{nh} , а *nhmC* подавляет репрессивную активность *nhmD* в присутствии мочевины. Полученные данные указывают на реализацию регуляции по принципу снятия репрессии и демонстрируют перспективность модуля *nhmCD-P_{nh}* для создания индуцируемых экспрессионных систем в *Rhodococcus*. Под контролем P_{nh} в клетках *R. rhodochrous* возможен синтез большого количества целевого белка (более 50 % от всех растворимых белков), и этот промотор используется для конструирования биокатализаторов получения акриловых мономеров [5].

Работа выполнена при поддержке тематического плана НИЦ «Курчатовский институт».

1. Grechishnikova E.G., Shemyakina A.O., Novikov A.D. *et al.* Structure of the Regulatory Region of Nitrile Hydratase Genes in *Rhodococcus Rhodochrous* M8, a Biocatalyst for Production of Acrylic Heteropolymers // *Microbiology*, 2024, No. 93 (4), 472–477.
2. Komeda H., Kobayashi M., Shimizu S. A Novel Gene Cluster Including the *Rhodococcus Rhodochrous* J1 *nhlBA* Genes Encoding a Low Molecular Mass Nitrile Hydratase (L-NHase) Induced by Its Reaction Product // *J. Biol. Chem.* 1996, No. 271 (26), 15796–15802.
3. Исаева С. М. Соотношение копийности генов-регуляторов и промотора – влияние на регулируемость экспрессии в *Rhodococcus rhodochrous* // *Биотехнология*, 2025, № 41, 172–174.
4. Lavrov K.V., Zalunin I.A., Kotlova E.K. Yanenko A.S. A New Acylamidase from *Rhodococcus Erythropolis* TA37 Can Hydrolyze N-Substituted Amides // *Biochemistry (Moscow)*, 2010, 75, 1006–1013.
5. Lavrov K.V., Shemyakina A.O., Grechishnikova E.G. *et al.* A New Concept of Biocatalytic Synthesis of Acrylic Monomers for Obtaining Water-Soluble Acrylic Heteropolymers // *Metab. Eng. Commun.* 2024, 18, 1–14.

**Везикулы клеточных мембран как модельные объекты
в анализе воздействия лекарственных препаратов
на примере агримониина и фелламурина**

Калашникова И. В., Смирнова О. Д., Алешин С. В.

*Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва,
Россия*

smirnovaOksana@ya.ru

Везикулы клеточных мембран представляют собой замкнутые ленгмюровские структуры [1], спонтанно отделяющиеся от мембран и содержащие в своем составе весь спектр стабилизирующего множества амфифилов исходных мембран [2], с измененным соотношением долей отдельных фосфолипидов [3], кривизна молекул которых определяет стабильный размер этих наночастиц [4]. Исходные клеточные мембраны обладают структурой наподобие жидких кристаллов, в которой топологически подобные липиды упорядочиваются в так называемые рафты, с еще более плотной упаковкой, а гидрофобные участки заякоренных белков встраиваются на границах [5]. Упорядочивание и консолидация веществ на фазовой границе способствуют формированию сопряженных супрамолекулярных комплексов [6], являющихся эмерджентной основой жизненной активности [7] и принципов реагирования клеток [8].

Лекарственные препараты могут неспецифически взаимодействовать с комплексами мембранных липидов, встраиваться в структуру мембран и приводить к разобщению [2–9]. Это должно сказываться на результирующем динамически стабильном размере [9] и дзета-потенциале производных везикул [10, 11], а также на их оптических свойствах [12], – и может быть измерено. Таким образом, коллоидный раствор везикул клеточных мембран может быть модельным объектом воздействия препарата на клетки и ткани.

Мы исследовали влияние растительных полифенолов агримониина и фелламурина в фармакологически рекомендуемых концентрациях, включая такие, при которых уже обнаруживают биологические эффекты без ингибирования отдельных ферментов [13, 14], на некоторые параметры везикул, выделенных из свежеессеченного мозга мышей C57Bl (размеры и дзета-потенциал, определяемые методом динамического светорассеяния на Malvern Zetasizer Nano ZSP, и спектры поглощения в диапазоне 250–650 нм на Shimadzu 3600 UV-Vis-NIR). Оба препарата приводили к увеличению среднего размера везикул, уменьшению модуля дзета-потенциала до нуля, а также к неаддитивным изменениям оптических спектров при 290–390 нм.

1. Suzuki N., Itabashi Y. Possible Roles of Amphiphilic Molecules in the Origin of Biological Homochirality // *Symmetry* 2019, 11, 966. doi:10.3390/sym11080966.
2. Budin I., Prwyes N., Zhang N., Szostak J.W. Chain-Length Heterogeneity Allows for the Assembly of Fatty Acid Vesicles in Dilute Solutions // *Biophys. J.* 2014; 107 (7): 1582–90. doi: 10.1016/j.bpj.2014.07.067.
3. Subra C., Laulagnier K., Perret B., Record M. Exosome Lipidomics Unravels Lipid Sorting at the Level of Multivesicular Bodies // *Biochimie.* 2007; 89 (2): 205–12. doi: 10.1016/j.biochi.2006.10.014.
4. Zimmerberg J., Kozlov M.M. How Roteins Produce Cellular Membrane Curvature // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2006; 7 (1): 9–19. doi: 10.1038/nrm1784.
5. Simons K., Ikonen E. Functional Rafts in Cell Membranes // *Nature.* 1997; 387 (6633): 569–72. doi: 10.1038/42408.
6. Srere P.A. Complexes of Sequential Metabolic Enzymes // *Annu. Rev. Biochem.* 1987; 56: 89–124. doi: 10.1146/annurev.bi.56.070187.000513.
7. Damiano L., Luisi P.L. Towards an Autopoietic Redefinition of Life // in “Origin of Life and Evolution of Biospheres”. 2010; 40 (2): 145. <https://doi.org/10.1007/S11084-010-9193-2>.
8. Alberts B. The Cell as a Collection of Protein Machines: Preparing the Next Generation of Molecular Biologists // *Cell.* 1998; 92 (3): 291–4. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80922-8.
9. Roy S.M., Sarkar M. Membrane Fusion Induced by Small Molecules and Ions // *J. Lipids.* 2011, doi:10.1155/2011/528784.
10. Bhattacharjee S. DLS and Zeta Potential – What They Are and What They Are Not? // *J. Control Release.* 2016; 235: 337–351. doi: 10.1016/j.jconrel.2016.06.017.
11. Smith M.C., Crist R.M., Clogston J.D., McNeil S.E. Zeta Potential: A Case Study of Cationic, Anionic, and Neutral Liposomes // *Anal. Bioanal. Chem.* 2017; 409 (24): 5779–5787. doi: 10.1007/s00216-017-0527-z.
12. Lakowicz J.R. Principles of Fluorescence Spectroscopy. Springer NY. P. 954. doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4. eBook ISBN 978-0-387-46312-4.
13. Miyamoto K., Kishi N., Koshiura R. Antitumor Effect of Agrimoniin, a Tannin of *Agrimonia Pilosa* Ledeb., on Transplantable Rodent Tumors // *Jpn J. Pharmacol.* 1987; 43 (2): 187–95. doi: 10.1254/jjp.43.187.
14. Серегина П. А., Нестерова Н. В., Овсянников А. Г., Харина А. С. Бархат амурский: ботанико-географическая характеристика, химический состав, опыт и перспективы применения в медицине и фармации // *Тенд. разв. науки и образов.* 2021; 71–1: 57–64. Doi: 10.18411/lj-03-2021-14/.

Сравнение эффективности мРНК вакцин на основе линейных и кольцевых РНК

Киршина А. С.¹, Чебанюк Е. И.², Хлебникова А. С.¹, Шепелькова Г. С.²,
Решетников В. В.¹

¹ Научно-технологический университет «Сириус», пгт. Сириус, Краснодарский край, Россия

² Центральный научно-исследовательский институт туберкулеза, Москва, Россия

kirshina.anyu27@mail.ru

Туберкулез (ТБ) остается ведущей причиной смертности среди инфекционных заболеваний [1]. Единственная вакцина против ТБ – БЦЖ – обладает ограниченной эффективностью. В связи с этим актуальной задачей является разработка новых противотуберкулезных вакцин. Успех мРНК-вакцин против вирусных инфекций побудил исследователей к применению РНК-вакцин для профилактики бактериальных заболеваний, включая туберкулез [2, 3].

Линейные и кольцевые РНК являются одними из разновидностей платформ РНК-вакцин. Линейные мРНК содержат свободные 5'- и 3'-концы, что делает их уязвимыми к деградации и может ограничивать продолжительность биосинтеза антигена. Кольцевые РНК имеют ковалентно замкнутую структуру, обеспечивающую устойчивость к действию экзонуклеаз, что способствует более длительной продукции антигена [4].

Целью данного исследования было сравнение иммуногенности и протективности БЦЖ и двух РНК-вакцин в составе липидных наночастиц на основе линейной (mRNA-MTB-mErp-5-1) и кольцевой РНК (circRNA-MTB-mErp-5-1), кодирующих мультиэпитопный антиген из пяти эпитопов ESAT6 (MTB-mErp-5-1) в экспериментальной модели ТБ на мышах.

Иммунизация mRNA-MTB-mErp-5-1 приводила к формированию менее выраженного, по сравнению с БЦЖ, клеточного и гуморального иммунного ответа (OD IgG: $0,36 \pm 0,12$ и $0,54 \pm 0,14$ соответственно), однако обеспечивала сопоставимое снижение бактериальной нагрузки в легких и селезенке (КОЕ в легочной ткани: $4,72 \cdot 10^5 \pm 3,44 \cdot 10^5$, $p = 0,0059$ и $4,00 \cdot 10^5 \pm 2,13 \cdot 10^5$, $p = 0,0068$ соответственно), а также повышала выживаемость животных после заражения *Mycobacterium tuberculosis*. Иммунизация circRNA-MTB-mErp-5-1 приводила к формированию только гуморального иммунитета (OD IgG $0,52 \pm 0,13$) и не обеспечила защиты после заражения ($2,12 \cdot 10^6 \pm 5,30 \cdot 10^5$, $p = 0,85$ КОЕ в легком).

Таким образом, кольцевая РНК-вакцина индуцировала выраженный гуморальный ответ, сопоставимый с БЦЖ. Однако линейная РНК-вакцина была более эффективной в формировании протективного ответа по сравнению с кольцевой РНК.

Данная работа выполнена при поддержке гранта государственной программы «Научно-техническое развитие федеральной территории «Сириус» (соглашение № 03-03 от 18 февраля 2025 г.).

1. Global Tuberculosis Report 2024. Available from: <https://www.who.int/teams/global-programme-on-tuberculosis-and-lung-health/tb-reports/global-tuberculosis-report-2024>.
2. Baden L.R., El Sahly H.M., Essink B. *et al.* Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine // *New Engl. J. Med.* 2021; 384 (5): 403–16.
3. Kazakova A., Zhelnov P., Sidorov R. *et al.* DNA and RNA Vaccines Against Tuberculosis: A Scoping Review of Human and Animal Studies // *Front. Immun.* 2024; 15: 1457327.
4. Liu X., Zhang Y., Zhou S. *et al.* Circular RNA: An Emerging Frontier in RNA Therapeutic Targets, RNA Therapeutics, and mRNA Vaccines // *J. Contr. Release.* 2022; 348: 84–94.

**Апробация антительной терапии,
направленной на таргетное ингибирование рецептора стабилин-1,
для подавления роста глиобластом *in vitro***

Ковалева С. А.¹, Гараева Л. А.¹, Емельянова С. С.¹, Грачев А. А.¹,
Волницкий А. В.¹, Коневега А. Л.^{1, 2}, Штам Т. А.^{1, 2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва,
Россия

kovaleva_sa@pnp.i.nrcki.ru

Стабилин-1 (STAB1) – трансмембранный сквенджер-рецептор, характерный для опухолеассоциированных макрофагов (TAM), способствующий подавлению цитотоксических Т-клеток и стимулированию ангиогенеза. Таргетинг STAB1 антителами перспективен в онкоиммунотерапии [1], однако его роль непосредственно в опухолевой клетке остается неизученной.

Целью работы явилась оценка экспрессии гена *STAB1* и его функциональной роли в пролиферации клеточных культур глиобластом.

В ходе исследования с помощью ОТ-ПЦР впервые было показано наличие экспрессии гена *STAB1* в культурах глиобластом, также был отмечен различный уровень экспрессии: гиперэкспрессия (GI-C), высокий уровень (GI-F, U87), низкий (GI-Tr, GI-Sh, GI-L), отсутствие (A172, GI-R). Наличие рецептора на поверхности клеток было подтверждено проточной цитометрией при окрашивании клеток флуоресцентно мечеными антителами к *STAB1*.

В дальнейшем было показано, что *STAB1* функционально вовлечен в регуляцию жизнеспособности клеток некоторых глиобластом. Так, блокада рецептора антителами к *STAB1* – AT-ST15 (12 мкг/мл, 1 мг/мл), согласно RTCA xCelligence DP и резазурин-тесту, вызвала снижение выживаемости клеток культуры GI-C (с гиперэкспрессией *STAB1*) на 10–20 %. При этом контрольная линия A172 была не чувствительна к действию AT-ST15.

Для апробации терапевтического подхода использовали антитела конъюгированные с радиоактивным изотопом тербия-161 (¹⁶¹Tb ~ AT-ST15). В серии экспериментов *in vitro* бы показан синергетический цитотоксический эффект ¹⁶¹Tb ~ AT-ST15 на выживаемость клеток GI-C. Наблюдали снижение жизнеспособности клеток GI-C на 10, 30 и 80 % при дозах 1, 3 и 12 МБк/мл соответственно. Цитотоксичность для клеточной линии A172 отсутствовала.

Полученные данные свидетельствуют о вовлеченности *STAB1* в пролиферативную активность клеток ряда глиобластом и перспективности селективной радионуклидной антительной терапии для *STAB1*-экспрессирующих глиобластом.

Работа выполнена в рамках государственного задания (регистрационный номер № 121060200125-2).

1. Gurung J.L., Tamang R.L. *et al.* // Biology. 14, 9 (2025).

Оптический имиджинг для оценки эффективности терапии острой патологии печени с использованием микроРНК-200а

*Козлова В. А.^{1,2}, Родимова С. А.¹, Бобров Н. В.³, Щечкин И. Д.^{1,2},
Козлов Д. С.^{1,4}, Зюзин М. В.⁵, Загайнов В. Е.^{1,6}, Загайнова Е. В.^{1,7},
Кузнецова Д. С.^{1,4}*

¹ Научно-исследовательский институт экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий Приволжского исследовательского медицинского университета Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

² Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

³ Приволжский окружной медицинский центр ФМБА России, Нижний Новгород, Россия

⁴ Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова, Москва, Россия

⁵ Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

⁶ ГАУЗ НО «НИИКО «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер», Нижний Новгород, Россия

⁷ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. акад. Ю. М. Лопухина ФМБА, Москва, Россия

Kozlova.Vera2002@yandex.ru

Наиболее эффективным методом лечения опухолей, локализованных в печени, является хирургическое удаление. При патологии регенераторный потенциал печени резко снижается [1]. Перспективной стратегией для стимуляции восстановления печени является доставка микроРНК. Перспективной является микроРНК-200а, которая регулирует экспрессию генов ответа на окислительный и ЭПР-стресс. Использование наночастиц, в частности из полилактида, позволяет повысить эффективность доставки микроРНК [2].

Целью работы стало подтверждение эффективности стимуляции регенерации и терапии патологии печени путем введения комплексов наночастиц полилактида (PLA) с микроРНК-200а.

Эксперименты проводили на крысах линии Wistar с индуцированной острой печеночной патологией, индукцию проводили путем введения парацетамола 1 г/кг. Через 24 ч проводили индукцию регенерации путем 70%-ной гепатэктомии (ГЭ). За 21 ч до ГЭ вводили комплексы PLA-микроРНК-200а. Мониторинг изменений проводили на 0, 3 и 7 дни регенерации. Оценка эффективности стимуляции регенерации и терапии патологии печени проводили на основе мультифотонной микроскопии в режимах флуоресцентной, ГВГ- и FLIM-микроскопии, а также с использованием стандартных методов морфологического анализа.

Показано, что введение комплексов PLA-микроРНК-200а увеличивает пролиферативную активность гепатоцитов, снижает дистрофические проявления в ткани и восстанавливает метаболический статус гепатоцитов. Таким образом, комплексы PLA-микроРНК-200а являются перспективной стратегией для стимуляции регенерации и терапии острой патологии печени, что в будущем может быть транслировано в клинику.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 24-75-10007.

1. Michalopoulos G.K., Bhushan B. Liver Regeneration: Biological and Pathological Mechanisms and Implications // Nat. Rev. Gastroent. Hepat. (2021).
2. Malhi H., Kaufman R.J. Endoplasmic Reticulum Stress in Liver Disease // J. Hepat. (2011).

Вариации числа копий участков ДНК при интеллектуальной недостаточности у детей

Копытова А. Э.^{1,2}, Емелина Д. А.³, Мирошникова В. В.^{1,2}, Усенко Т. С.^{1,2},
Пчелина С. Н.^{1,2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

³ Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии
им. В. М. Бехтерева Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

copytova_ae@pnpi.nrcki.ru

Роль генетических факторов в этиологии интеллектуальной недостаточности (ИН) составляет 25–50 % случаев. Существенную роль играют хромосомные аномалии, в том числе микроделеции и микродупликации, а также однонуклеотидные полиморфные варианты (SNP) [1].

Цель работы – выявление генетических факторов (вариаций числа копий участков ДНК (CNV) и SNP), ассоциированных с развитием ИН у детей.

В исследование вошло 19 семей, в которых один или более sibсов с ИН (29 детей). Для выявления CNV использовался метод сравнительной геномной гибридизации с помощью микрочипов SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 8 x 60K. Для выявления SNP в кодирующих областях генов, оказывающих влияние на развитие заболевания, проведено полноэкзомное секвенирование.

CNV размером от 85 т. п. н. до 1,3 м. п. н. были обнаружены у 7 детей (24 %). В двух случаях выявлены патогенные CNV: редкий вариант частичной дупликации Xq28 (439,6 т. п. н.) (*F8, MTCP1, BRCC3, VBP1, RAB39B, CLIC2, FUNDC2, CMC4*) и частичная моносомия 17p12X (1,3 м. п. н.) (*COX10, HS3ST3B1, PMP22, TEKT3, CDRT15, MGC12916, LOC101928475, CDRT7, CDRT8, MIR4731, CDRT4, TVP23C-CDRT4, CDRT3, TVP23C*). Четыре CNV с неопределенной клинической значимостью (VUS-CNV): частичная трисомия 12p13.31 (*SLC2A14, SLC2A3*); частичная дисомия Xq22.3 (*NRK*); частичная трисомия 1p36.22p36.21 (*VPS13D, SNORAS9A, SNORAS9B, MIR730, DHRS3, AADA4L4, AADA4L3, C1orf158, PRAMEF12*); частичная трисомия 20p11.23 (*SLC24A3, RIN2, NAA20, CRNKL1, CFAP61*). Экзомное секвенирование не выявило SNP, ассоциированных с ИН.

Отсутствие SNP у пациентов с VUS-CNV при вовлечении дозозависимых генов, экспрессирующихся в мозге, может дополнительно свидетельствовать в пользу патогенетической значимости CNV. Однако требуются дополнительные функциональные доказательства.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (тема № 1023031500037-7-1.6.8; 1.6.1; 1.6.2; 1.6.3). Молекулярно-цитогенетические исследования выполнены в НИИ медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра.

1. Лавров А. В., Банников А. В., Чаушева А. И., Дадали Е. Л. Генетика умственной отсталости // Росс. вестн. перинатол. и педиатр. 2016; 61 (6): 13–20.

**Действие амброксола на лизосомные ферменты в норме
и при GBA1-ассоциированной болезни Паркинсона
на клетках первичной культуры макрофагов**

*Копытова А. Э.^{1,2}, Николаев М. А.^{1,2}, Байдакова Г. В.³, Милюхина И. В.⁴,
Захарова Е. Ю.³, Пчелина С. Н.^{1,2}*

¹ *Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия*

² *НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия*

³ *Медико-генетический научный центр им. акад. Н. П. Бочкова, Москва, Россия*

⁴ *Институт мозга человека им. Н. П. Бехтеревой РАН, Санкт-Петербург, Россия*

kopytovaalena@mail.ru

Амброксол (АВХ) – широко используемый муколитический препарат – в последние годы зарекомендовал себя как модулятор активности лизосомного фермента глюкоцереброзидазы (GCase) [1]. Его эффективность была многократно показана на пациент-специфичных клетках и животных моделях. Предполагается, что АВХ может быть эффективен и при дефиците других лизосомных ферментов.

Цель работы – оценить действие АВХ на лизосомные ферменты на клетках первичной культуры макрофагов пациентов с болезнью Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене GCase – GBA1 (GBA1-БП) и контроле.

Из периферической крови пациентов с GBA1-БП и контроля была выделена мононуклеарная фракция в градиенте Фиколла с последующим культивированием в стандартных условиях [2]. На 4-й день к клеткам добавляли АВХ (50 мкМ) и культивировали еще 4 дня. Активность лизосомных ферментов: GCase, альфа-галактозидазы (GLA), альфа-глюкозидазы (GAA), галактоцереброзидазы (GALC), сфингомиелиназы (ASM) и альфа-идуронидазы (IDUA) оценивали в клетках, нанесенных на фильтры (Whatman 903) в концентрации $2 \cdot 10^6$ кл/мл, методом ВЭЖХ – МС/МС.

Показано увеличение активности GCase в клетках первичной культуры макрофагов как в контроле ($p = 0,028$), так и у пациентов с GBA1-БП ($p = 0,031$) при добавлении АВХ. Статистически значимых различий в активностях других лизосомных ферментов в исследуемых группах при воздействии АВХ выявлено не было.

Мы предполагаем, что действие АВХ по повышению активности лизосомных ферментов не ограничивается увеличением активности GCase, что может быть обусловлено улучшением функции лизосом, активацией процессов аутофагии и противовоспалительным действием. Необходимы увеличение выборки для тестирования действия АВХ, дополнительная титровка АВХ, а также изменение методики оценки активности лизосомных ферментов – в лизатах

клеток с нормировкой на общий белок для увеличения достоверности результатов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 25-25-00994.

1. Tran M.L., Génisson Y., Ballereau S., Dehoux C. Second-Generation Pharmacological Chaperones: Beyond Inhibitors // *Molecules*. 2020; 25 (14): 3145.
2. Копытова А.Е., Рычков Г.Н., Николаев М.А. *et al.* Ambroxol Increases Glucocerebrosidase (GCase) Activity and Restores GCase Translocation in Primary Patient-Derived Macrophages in Gaucher Disease and Parkinsonism // *Parkinsonism Relat. Disord.* 2021; 84: 112–121.

Кристаллическая структура бифункционального фермента RelSeq из *Streptococcus equisimilis* в комплексе с алармоном pppGpp

Корбан С. А.^{1,2}, Касацкий П. С.¹, Спиридонова З. А.¹, Полесскова Е. В.^{1,3},
Кульминская А. А.^{1,4}, Коневега А. Л.^{1,3,4}, Виноградова Д. С.¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

³ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
Санкт-Петербург, Россия

⁴ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва,
Россия

korban_sa@npi.nrcki.ru

Бактерии выживают в экстремальных условиях благодаря «строгому ответу» – глобальной перестройке метаболизма и генной экспрессии, запускаемой накоплением сигнальных молекул – алармонов (p)ppGpp [1]. Бифункциональные белки семейства RSH (RelA/SpoT Homolog) играют ключевую роль в этом процессе, синтезируя и гидролизуя алармоны в ответ на стрессовые условия [2]. Эти ферменты состоят из регуляторного C-концевого домена (связывающегося с рибосомой) и каталитического N-концевого домена, содержащего гидролазный и синтетазный субдомены. Исследование сложного аллостерического механизма, который обеспечивает двойную функцию ферментов и поддерживает внутриклеточные уровни алармонов, представляет собой актуальную задачу для современной науки.

RelSeq₃₈₅ – каталитический N-концевой фрагмент (а. к. 1–385) RelA/SpoT гомолога из *Streptococcus equisimilis* [3]. Ранее нами была показана высокая конформационная устойчивость комплексов RelSeq₃₈₅•ppGpp/pppGpp в условиях тепловой денатурации и высказано предположение о дополнительном способе регуляции бактериями уровня алармонов [4]. В рамках данной работы нами получена кристаллическая структура RelSeq₃₈₅ в комплексе с алармоном pppGpp с анизотропным разрешением 3–3,2 Å, которая выявляет две различные конформации фермента. В субъединице А алармон связан в синтетазном домене, тогда как субъединица Б демонстрирует связывание алармона и в синтетазном, и в гидролазном центрах. Полученные результаты согласуются и расширяют наши предположения о структурной организации фермента RelSeq и механизмах аллостерической регуляции алармонов (p)ppGpp при адаптации бактерий к стрессовым условиям, открывая перспективы разработки антибактериальных препаратов, нацеленных на RSH-ферменты патогенных микроорганизмов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 23-74-10088. Дифракционные данные собраны на источнике XtaLAB Synergy-S (Rigaku) в РЦ СПбГУ «Рентгенодифракционные методы исследования» при поддержке гранта СПбГУ № 130915570.

1. Steinchen W., Bange G. // *Mol. Microbiol.* 101, 531 (2016).
2. Atkinson G.C. *et al.* // *PLoS One.* 6 (8): e23479 (2011).
3. Hogg, Tanis *et al.* // *Cell*, 117 (1): 57–68 (2004).
4. Vinogradova *et. al.* // *Nanobiotechn. Rep.* 20 (6): 903–915 (2025)

Кристаллическая структура α -L-фукозидазы FpFucB семейства GH29 из *Fusarium proliferatum* LE1

Корбан С. А.^{1,2}, Бобров К. С.¹, Борщевский В. И.³, Поспелов В. А.³,
Швецов А. В.^{1,4,5}, Титов А. И.¹, Энейская Е. В.¹, Кульминская А. А.¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

³ Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия

⁴ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

⁵ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

korban_sa@npi.nrcki.ru

α -L-Фукозидазы катализируют гидролитическое отщепление концевых остатков α -L-фукозы в фукозосодержащих углеводах и гликоконъюгатах. Данные ферменты участвуют в деградации фукоиданов и применяются для получения фукоолигосахаридов, гликоинженерии антител и синтеза биологически активных соединений с лекарственным потенциалом. Несмотря на высокий биотехнологический потенциал фукозидаз, их структурные особенности и механизмы действия изучены недостаточно.

Нами впервые определена кристаллическая структура нового фермента α -L-фукозидазы семейства гликозидгидролаз GH29 из гриба *Fusarium proliferatum* LE1 и проведена его детальная характеристика. Пространственная структура белка была определена методом рентгеноструктурного анализа с высоким разрешением (2,2–2,6 Å) в закрытой конформации активного центра.

Установлено, что фермент состоит из трех доменов: N-концевого каталитического, центрального β -сэндвич-домена и уникального C-концевого кристаллинного домена. Комплексный структурный и молекулярно-динамический анализ выявил высокую подвижность C-концевого домена, свидетельствующую о ключевой роли его гибкости в распознавании, связывании и переносе субстратов к активному центру. Полученные результаты существенно расширяют знания о молекулярных механизмах фукозидаз и открывают перспективы их применения в биотехнологии и промышленности.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1024011100004-4-1.6.8; 1.6.4; 1.6.7; 1.6.1). Приобретение реагентов для кристаллизации белка частично финансировалось за счет гранта № 130915570 СПбГУ.

Радиофарм-синтез: мобильные производственные комплексы ультракороткоживущих радиофармпрепаратов для персонализированной медицины

Краевская А. Г., Кондратьев М. С., Изютина С. В.

Российский экономический университет им. Г. В. Плеханова, Москва, Россия

ana.kraevskaya@yandex.ru

Современная ядерная медицина РФ характеризуется критическим ограничением: 95 % ПЭТ-исследований выполняются с единственным радиофармпрепаратом ^{18}F -ФДГ ($T_{1/2} = 110$ мин) [1]. Ультракороткоживущие изотопы (^{15}O , ^{13}N , ^{11}C) с периодом полураспада 2–20 мин физически невозможно транспортировать от централизованных производств, что исключает их клиническое применение [2].

Цель исследования – разработка технологической платформы локального производства ультракороткоживущих РФП на базе модульного комплекса, интегрируемого в инфраструктуру медицинских учреждений.

Экспериментальный комплекс включает: компактный циклотрон (энергия протонов 11–18 МэВ, ток пучка до 80 мкА), автоматизированный синтезатор ($\text{RSD} < 5\%$), мишеневую систему с изотопно-обогащенными материалами (^{15}N , $^{13}\text{CH}_4$) [3]. Технологии газового центрифугирования увеличивают выход целевых радионуклидов в 10–50 раз [4]. Трехбарьерная система защиты обеспечивает дозовую нагрузку на персонал < 1 мЗв/год.

Платформа обеспечивает доступ к ультракороткоживущим РФП: ^{15}O -вода – оценка перфузии миокарда и церебрального кровотока [5]; ^{13}N -аммиак – специфичность $> 85\%$ при микроваскулярной дисфункции [6]; ^{11}C -метионин – дифференциация глиом (специфичность $> 90\%$) [7]; ^{11}C -PiB – детекция болезни Альцгеймера за 10–15 лет до манифестации симптомов [8]. Повышение диагностической точности на 30–40 % по сравнению с ^{18}F -ФДГ.

Впервые адаптированы технологии двойного назначения (изотопное обогащение, компактизация оборудования) для медицинского применения. Модульная архитектура (37 м³) позволяет развертывание полного цикла производства РФП на площади 100–150 м². Концепция on-site-синтеза решает проблему недоступности изотопов с $T_{1/2} < 20$ мин.

Разработанная платформа создает потенциал для прорыва в персонализированной диагностике социально значимых заболеваний и обеспечения технологического суверенитета в критически важной области здравоохранения [9].

1. Национальный доклад по ядерной медицине Российской Федерации. – М.: Росатом, 2023. – 156 с.

2. Брюховецкий А. С. Физико-технические основы производства короткоживущих радионуклидов // Мед. радиол. – 2022. – Т. 67, № 3. – С. 45–52.
3. Cherry S.R. Physics in Nuclear Medicine / S.R. Cherry, J.A. Sorenson, M.E. Phelps. – 4th ed. – Philadelphia: Saunders, 2012. – 523 p.
4. Villani S. Uranium Enrichment // Topics in Applied Physics. – Berlin: Springer, 1979. – V. 35. – 342 p.
5. Bergmann S.R. Characterization of Altered Myocardial Blood Flow with PET and ¹⁵O-Water // J. Nucl. Cardiol. – 2020. – V. 27, No. 6. – P. 1948–1960.
6. Danad I. Quantitative Assessment of Myocardial Perfusion with ¹³N-Ammonia PET // J. Amer. College Cardiol. – 2021. – V. 77, No. 3. – P. 273–287.
7. Glaudemans A.W. Value of ¹¹C-Methionine PET in Imaging Brain Tumours and Metastases // Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imag. – 2013. – V. 40, No. 4. – P. 615–635.
8. Klunk W.E. Imaging Brain Amyloid in Alzheimer's Disease with Pittsburgh Compound-B // Ann. Neurol. – 2004. – V. 55, No. 3. – P. 306–319.
9. Radiopharmaceuticals Market Size. Report ID: GMI5846. – Delaware: Global Market Insights, 2024. – 420 p.

Биологические основы и риски применения технологии CRISPR-Cas9 для коррекции наследственных заболеваний в эмбрионах человека

Краевская А. Г., Изутина С. В., Гаджиев А. А.

Российский экономический университет им. Г. В. Плеханова, Москва, Россия

ana.kraevskaya@yandex.ru

Технология CRISPR-Cas9 представляет собой инструмент для редактирования генома, который был открыт при изучении иммунной системы бактерий. Система состоит из двух основных элементов: направляющей РНК, которая находит нужный участок ДНК, и белка Cas9, который разрезает ДНК в этом месте [1]. После разреза клетка сама восстанавливает повреждение, и в процессе можно либо «выключить» ненужный ген, либо исправить его на правильный вариант.

При использовании CRISPR-Cas9 на ранних эмбрионах появляется возможность исправить генетические мутации, вызывающие наследственные болезни, еще до рождения ребенка [2]. Были проведены эксперименты по исправлению мутаций в генах, ответственных за бета-талассемию, муковисцидоз и некоторые болезни сердца.

Однако применение этой технологии сопряжено с серьезными биологическими рисками. Главная проблема – это ошибки редактирования, когда белок Cas9 разрезает не только нужный участок ДНК, но и похожие по структуре участки в других местах генома [3]. Это может привести к нежелательным мутациям, хромосомным нарушениям и даже развитию рака. Другая проблема – мозаицизм, когда изменения происходят не во всех клетках эмбриона, и организм получается генетически неоднородным. Кроме того, пока неизвестно, как редактирование генома влияет на работу других генов и какие последствия могут проявиться через много лет или в следующих поколениях [4].

Помимо биологических вопросов, существуют этические и правовые проблемы. Изменение генома эмбрионов затрагивает будущие поколения, которые не могут дать на это согласие. Непонятно, где провести границу между лечением болезней и улучшением человеческих характеристик [2]. В разных странах отношение к этой технологии различается: в Германии она полностью запрещена, в Великобритании разрешены только научные исследования. Международное научное сообщество пока не пришло к единому мнению о допустимости клинического применения редактирования генома эмбрионов.

1. Jinek M., Chylinski K., Fonfara I. *et al.* A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity // *Science*. 2012. V. 337, No. 6096. P. 816–821.
2. Баранов В. С. Программа «Геном человека» как научная основа профилактической медицины // *Вестн. РАМН*. 2000. № 10. С. 27–37.

3. Кулишова Л. М., Вохтанцев И. П., Ким Д. В., Жарков Д. О. Механизмы специфичности системы CRISPR/Cas9 в геномном редактировании // Мол. биол. 2023. Т. 57, № 2. С. 269–284.
4. Ma H., Marti-Gutierrez N., Park S.W. *et al.* Correction of a Pathogenic Gene Mutation in Human Embryos // Nature. 2017. V. 548, No. 7668. P. 413–419.

Влияние диэтиламинофосфонийных производных на биоэнергетику митохондрий печени крысы и дрожжи *Yarrowia lipolytica*

Кувырченкова А. П.¹, Голева Т. Н.¹, Иващенко М. В.², Гаев К. Г.^{1, 2},
Филатов И. Д.², Рогов А. Г.¹

¹ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

² Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Kuvyrchenkova_AP@nrcki.ru

Нарушение баланса между образованием и утилизацией активных форм кислорода (АФК) приводит к их чрезмерному накоплению, что вызывает повреждение клеточных структур и компонентов, а также развитие окислительного стресса [1].

Для защиты от этих процессов используются антиоксиданты, которые нейтрализуют свободные радикалы и предотвращают разрушение клеток. Особое внимание привлекают антиоксиданты, нацеленные на митохондрии [2]. Например, недавние исследования подтверждают их эффективность в моделях нейродегенеративных заболеваний [3] и рака [4].

В этом исследовании оценивали влияние производных диэтиламино- и фенилфосфония на энергетический статус изолированных митохондрий печени крыс и клеток дрожжей *Yarrowia lipolytica* с аэробным типом обмена. Эти соединения – липофильные катионы с митохондриальной направленностью и насыщенной углеводородной цепью разной длины. Гидрофобный «хвост» обеспечивает проникновение через клеточные мембраны, а положительный заряд способствует накоплению в митохондриях благодаря их отрицательному потенциалу [5]. Соединения отличались числом замещающих групп и длиной алифатической цепи. Результаты показали, что они действуют как разобщители и деполяризаторы, не влияя специфически на АТФ-синтазу, и снижают продукцию пероксида водорода митохондриями.

Сила разобщающего эффекта напрямую коррелировала с длиной алифатической цепи, в то время как способность снижать мембранный потенциал и провоцировать открытие неспецифической митохондриальной поры зависела от количества диэтиламиновых групп.

Все соединения тормозили рост и деление клеток *Y. lipolytica* в тестируемых концентрациях с явной концентрационной зависимостью. Наибольшее ингибирование роста оказывали вещества с длинной алифатической цепью, вероятно, из-за лучшего проникновения в клетки. Цитотоксичность обратно пропорциональна числу диэтиламиновых групп.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

1. Rogov A.G., Goleva T.N., Epremyan K.K. *et al.* Propagation of Mitochondria-Derived Reactive Oxygen Species within the *Dipodascus Magnusii* Cells // *Antioxidants*. 2021. V. 10. P. 120.
2. Shinn L.J., Lagalwar S. Treating Neurodegenerative Disease with Antioxidants: Efficacy of the Bioactive Phenol Resveratrol and Mitochondrial-Targeted MitoQ and SkQ // *Antioxidants*. 2021. V. 10. P. 573.
3. Plotnikov E.Y. *et al.* Mitochondria-Targeted Antioxidants in Neuroprotection: Recent Advances // *Antioxidants*. 2024. V. 13. No. 8. P. 912.
4. Zielonka J. *et al.* Mitochondria-Targeted Phosphonium-Based Antioxidants: New Insights into Anticancer Mechanisms // *Free Radical Biol. Med.* 2025. V. 214. P. 45–56.
5. Mironov V.F. *et al.* Novel Mitochondria-Targeted Amphiphilic Aminophosphonium Salts and Lipids Nanoparticles: Synthesis, Antitumor Activity and Toxicity // *Nanomaterials (Basel)*. 2023. V. 13. No. 21. P. 2840.

Влияние активации cGAS-STING пути на депоуправляемый вход кальция

*Куровский Е. Б., Новикова Ю. В., Григорьева Е. Р., Колесников Д. О.,
Грехнёв Д. А., Казначеева Е. В.*

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

KURSEV24@yandex.ru

Сигнальный путь cGAS-STING является важной составляющей врожденного иммунитета. Этот каскад направлен на активацию иммунной реакции в ответ на попадание ДНК в цитозоль. ДНК в цитозоле является маркером патологических процессов, таких как вирусная, бактериальная инфекция, нейродегенерация, онкогенез. В результате активации данного пути запускается синтез интерферонов 1-го типа и других провоспалительных цитокинов. Открытием стало прямое белок-белковое взаимодействие между STING и STIM1 в мембране эндоплазматического ретикулума (ER) [1]. STIM1 – это сенсор ионов кальция в ER. Его активация вследствие опустошения ER, внутриклеточного депо кальция, индуцирует приток кальция в цитозоль через депо-управляемые каналы.

В данной работе мы оценили влияние активации STING на депоуправляемый вход (SOCE), вызванный аппликацией блокатора SERCA – тапсигаргина во внеклеточный раствор. С помощью флуоресцентного зонда Fura2-AM на линии HEK293 мы показали снижение SOCE после активации STING своим природным (cGAMP) или синтетическим (diABZI) агонистом. Далее на клетках HEK293 с полным нокаутом STIM1 либо STIM2 мы подтвердили, что эффект активации STING на SOCE опосредован STIM1 и не зависит от гомолога STIM2. Флуоресцентные измерения мы подтвердили с помощью электрофизиологической регистрации интегральных токов кальция через депоуправляемые каналы. Кроме того, мы показали избирательное снижение SOCE, после активации STING, опосредованное TRPC-содержащими депоуправляемыми каналами, но не Orai.

Таким образом, активация STING может влиять на SOCE, что необходимо учитывать при разработке терапии, нацеленной на модуляцию STING-пути.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 25-75-00103.

1. Srikanth S., Woo J.S., Wu B. *et al.* The Ca²⁺ Sensor STIM1 Regulates the Type I Interferon Response by Retaining the Signaling Adaptor STING at the Endoplasmic Reticulum // *Nat. Immunol.* 20, 152–162 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0287-8> .

Разработка лабораторной установки для генерации магнитного поля и испытания наночастиц в целях магнитной гипертермии – перспективного метода терапии рака

Лисаевич Н. А., Дмитриева А. С., Рыжов В. А., Марченко Я. Ю.

НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

lisaevich_na@pnp.i.nrcki.ru

Одним из наиболее многообещающих путей в современной медицине выступает разработка систем магнитной гипертермии на базе магнитных наночастиц оксида железа (МНЧ). Примером служит клиническое внедрение метода при монотерапии рака предстательной железы [1] 2005 г. Это пока единственный документально подтвержденный случай магнитной гипертермии наночастиц при монотерапии у людей. Метод основан на избирательном нагреве опухолевых клеток за счет тепловыделения на МНЧ под действием переменного магнитного поля (ПМП). При воздействии ПМП с амплитудой порядка нескольких кА/м и частотой сотен кГц энергия ПМП преобразуется в тепловую, вызывая локальное повышение температуры до 42–55 °С, при котором злокачественные клетки подвергаются апоптозу или некрозу.

Нашей целью являлась разработка установки, способной генерировать ПМП с близкими к клиническим параметрами (до 5 мТл, 100 кГц), и экспериментальное исследование нагрева коллоидных систем на основе МНЧ. Был собран параллельный LC-контур с настраиваемой резонансной частотой в диапазоне 100–900 кГц. На первом этапе использовался генератор ГЗ-112/1 с усилителем, позволивший произвести настройку контура и согласование с нагрузкой. Катушка индуктивности из медной трубки снабжена водяным охлаждением. Синтез МНЧ был осуществлен методом соосаждения солей Fe (III) и Fe (II) в щелочной среде с последующей стабилизацией декстраном (9–11 кДа). Содержание железа в образце измерялось колориметрически и составило $2 \cdot 10^4$ мкг/мл. Выявлен рост температуры образца в катушке: на частоте 323 кГц на 4,0 °С за 40 мин. Показан эффективный захват энергии ПМП и возможность применения установки для магнитной гипертермии *in vitro* при параметрах, близких к клиническим. Установка способна воспроизводить параметры ПМП, применявшихся в клинических испытаниях [1], и может служить модельной платформой для исследований противоопухолевого потенциала МНЧ.

1. Johannsen M., Gneveckow U. *et al.* // Int. J. Hyperth. 637–647, 21 (7) (2005).

**Физиологическая характеристика штаммов *non-Saccharomyces*
и влияние иммобилизованных культур на ароматический профиль вина
при совместном брожении с *Saccaromyces cerevisiae***

Малиева А. Ю., Провоторова Е. А., Толкачева В. А., Пожидаев В. М.,
Камаев А. В., Федосов Д. Ю.

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва,
Россия

mau.486@mail.ru

Дрожжи *non-Saccharomyces* – перспективный инструмент для управления органолептикой и снижения этанола в вине [1]. Эта группа, являющаяся естественным компонентом микробиоты винограда [2], обладает уникальным метаболическим потенциалом [3]. Иммобилизация дрожжей на биополимерах, таких как хитозан, способна изменять метаболизм и повышать стабильность вина [4]. Цель работы – охарактеризовать штаммы *non-Saccharomyces*, оценить влияние на ароматику вина в совместном брожении и эффект иммобилизации на хитозане на метаболизм.

В исследовании использовали коллекцию из 17 штаммов дрожжей *non-Saccharomyces* из коллекции ВКПМ НИЦ «Курчатовский институт». Для 9 штаммов показана устойчивость к высокой концентрации этанола – более 8 %, все штаммы продемонстрировали устойчивость к низким значениям pH. В условиях недостатка азотистых веществ для некоторых штаммов отмечена способность к образованию псевдомицелия. Проведено сравнительное брожение по трем схемам инокуляции: только *S. cerevisiae*, только *non-Saccharomyces* и их совместная ферментация.

Совместное брожение в сравнении с брожением *S. cerevisiae* позволило обогатить органолептический профиль вина цитрусовыми, минеральными, пряными ароматами. *Schizosaccharomyces pombe* в монокультуре почти полностью утилизирует яблочную кислоту, в то время как *Starmerella bacillaris*, *Metschnikowia pulcherrima* и *S. pombe* увеличивают продукцию глицерина.

Иммобилизация штаммов на хитозане способна повышать активность дрожжей, а также индуцировать переход от брожения к дыханию. Для иммобилизованной культуры *S. bacillaris* показано значительное накопление лимонной кислоты, по-видимому вследствие торможения аконитазной стадии цикла Кребса, что демонстрирует возможность иммобилизации как инструмента для направленной активации альтернативных метаболических путей у винных дрожжей.

1. Röcker J., Strub S. *et al.* Usage of Different Aerobic *NonSaccharomyces* Yeasts and Experimental Conditions as a Tool for Reducing the Potential Ethanol Content in Wines // Eur. Food Res. Technol. (2016).
2. Esteve-Zarzoso B., Manzanares P. *et al.* The Role of *Non-Saccharomyces* Yeasts in Industrial Winemaking // Int. Microbiol. 2 (1): 58 (1999).
3. Padilla B., Gil J.V. *et al.* Past and Future of *Non-Saccharomyces* Yeasts: From Spoilage Microorganisms to Biotechnological Tools for Improving Wine Aroma Complexity // Front. Microbiol. 31: 7: 411 (2016).
4. Kourkoutas Y., Bekatorou A. *et al.* Immobilization Technologies and Support Materials Suitable in Alcohol Beverages Production: A Review // Food Microbiol. 377–397 (2004).

Поиск нетоксичных комбинаций полимиксина Б и растительных полифенолов для расширения терапевтического окна липопептида

Мартынюк В. А., Злодеева П. Д., Ефимова С. С., Божокина Е. С.,
Цаплина О. А., Остроумова О. С.

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

Martynyuk.va@mail.ru

Полимиксин Б (ПмБ) относится к препаратам последней линии терапии и используется для лечения инфекций, вызванных патогенами с множественной лекарственной устойчивостью, поскольку обладает выраженной токсичностью. Возможным ключом к усилению эффективности и снижению токсичности ПмБ может быть комбинирование с соединениями, влияющими на порообразующую активность липопептида. Такими агентами могут быть модификаторы свойств мембран, в частности флавоноиды [1]. Целью данной работы был поиск молекул, способных усилить бактерицидный эффект без повышения токсичности ПмБ.

В работе регистрировали токи, протекающие через плоские липидные бислои, которые формировали по Монталу и Мюллеру [2]. Мембраны состояли из смеси фосфохолина, фосфоглицерина и различных липополисахаридов (ЛПС): липид А (ЛА), КДО₂-ЛА, ЛПС из *Serratia marcescens* и *Salmonella enterica*. Рост бактерий в среде, содержащей комбинации «ПмБ – флавоноид», оценивали по изменению оптической плотности, токсичность сочетаний оценивали с использованием МТТ-теста.

В случае мембран, содержащих КДО₂-ЛА, способность молекул увеличивать ПмБ-индуцированный ток снижается в ряду: бутеин, мирицетин, ресвератрол, кардамонин, кверцетин, 4'-гидроксиалкон, нарингенин, пицеатаннол. Ресвератрол, 4'-гидроксиалкон и нарингенин увеличивают бактерицидное действие ПмБ в отношении *Escherichia coli*. В случае мембран, содержащих ЛА, способность агентов увеличивать ПмБ-индуцированный ток снижается в ряду: лютеолин, кверцетин, пицеатаннол, бутеин, 4'-гидроксиалкон. В моделях, содержащих ЛПС из *S. marcescens* и *S. enterica*, эффективны пицеатаннол и кардамонин. Лютеолин, 4'-гидроксиалкон, кверцетин, ресвератрол, нарингенин и фисетин усиливают антимикробное действие ПмБ в отношении *Serratia proteamaculans*.

Выявлено, что бутеин, 4'-гидроксиалкон и нарингенин не обладают значимой цитотоксичностью в эффективных концентрациях, что делает их наиболее перспективными агентами для создания комбинированных препаратов на основе ПмБ.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 25-14-00162.

1. Zakharova A.A., Efimova S.S., Ostroumova O.S. // Antibiotics (Basel, Switzerland). 11 (10), 1445 (2022).
2. Montal M., Mueller P. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 65, 3561–3566 (1972).

Обучение прогнозной модели на позитивном классе и неразмеченных данных для идентификации генов-кандидатов ишемического инсульта с использованием генной сети

Мефодьев Д. С.¹, Хворых Г. В.², Хрунин А. В.², Лимборская С. А.²

¹ Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

mefodev.ds@phystech.edu, khvoryh_gv@nrcki.ru

Изучение генетики полигенных заболеваний путем анализа генных сетей с помощью методов машинного обучения – перспективное направление биомедицинских исследований. Чтобы его провести, нужно преобразовать сеть в векторное представление (эмбединг) и решить задачу обучения на позитивном классе и неразмеченных данных. Создавая эмбединги с помощью алгоритмов на основе случайного блуждания и формируя негативный класс путем случайного выбора генов из неразмеченных данных, мы ранее уже определили несколько генов-кандидатов ишемического инсульта (ИИ) [1]. В настоящей работе мы изучили возможности создания эмбедингов с помощью алгоритмов на основе графовых нейросетей и формирования негативного класса неслучайным образом.

Материалами исследования стали сеть из 13 460 генов [2] и 1 159 генов ИИ, загруженных из DisGeNET. Эмбединги построили с помощью GraphSAGE. Негативным классом назначили 20 % наиболее удаленных генов от генов позитивного класса, рассчитав декартовы расстояния между генами в пространстве эмбедингов. Для обучения бинарного классификатора использовали алгоритм SVM. Гены-кандидаты отобрали по частоте встречаемости в процентиле 99.97, используя баллы принятия решения, полученные для 12 эмбедингов разной размерности.

Чаще всего среди отобранных генов встречался *DNAJB4*, кодирующий белок важнейшего класса белков-шаперонов HSP40, отвечающих за поддержание белкового гомеостаза. Ассоциативное исследование *Kobzeva K.A. et al.* показало, что многие гены, кодирующие белки HSP40, связаны с развитием ИИ [3]. Среди топовых генов также находился *ADH1B*, кодирующий бета-субъединицу фермента алкогольдегидрогеназы, играющего ключевую роль в метаболизме этанола. Аллельные варианты этого гена могут модифицировать риск ИИ, делая его выше у некоторых людей, даже если они употребляют алкоголь в небольших количествах [4].

Работа выполнена в рамках государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

1. Хворых Г. В. и др. Поиск генов-кандидатов ишемического инсульта путем обучения представления геной сети // Биотехнология, 2024; 40 (7): 58.
2. Menche J. *et al.* Disease Networks. Uncovering Disease-Disease Relationships Through the Incomplete Interactome // Science. 2015; 347 (6224): 1257601.
3. Kobzeva K.A. *et al.* Polymorphism in Genes Encoding HSP40 Family Proteins Is Associated with Ischemic Stroke Risk and Brain Infarct Size: A Pilot Study // J. Integr. Neurosci. 2024; 23 (12): 211.
4. Millwood I.Y. *et al.* Conventional and Genetic Evidence on Alcohol and Vascular Disease Aetiology: A Prospective Study of 500 000 Men and Women in China // The Lancet, 2019; 393 (10183): 1831.

Оценка антимикробной активности и стабильности пептида рицецилина в сыворотке крови и кондиционированной бактериальной среде на МЛУ-штаммах *Klebsiella pneumoniae*

Микушина А. Д.¹, Комлев А. С.², Елисеев И. Е.³

¹ Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет им. Ж. И. Алферова РАН, Санкт-Петербург, Россия

² Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

³ Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Санкт-Петербург, Россия

annamikushina303@gmail.com

Распространение инфекций, вызванных полирезистентными бактериями, требует поиска новых терапевтических агентов. Перспективным классом таких соединений являются антимикробные пептиды (АМП) – компоненты врожденного иммунитета [1]. В данной работе изучен новый АМП рицецилин, проявляющий активность против клинических изолятов с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) в низком микромолярном диапазоне (1–4 мкМ) [2].

Целью данной работы было проведение оценки влияния биологических сред (сыворотки крови и кондиционированной бактериальной среды) на антимикробную активность и стабильность рицецилина против МЛУ-штаммов *Klebsiella pneumoniae*.

Синтезированный твердофазным методом рицецилин инкубировали в 50%-ной сыворотке крови человека и в кондиционированной среде культивирования *K. pneumoniae* в течение 18 ч при 37 °С. После инкубации антимикробную активность определяли по минимальной ингибирующей концентрации (МИК) на четырех клинических изолятах. Для прямого анализа стабильности пептид метили флуорофором AlexaFluor 568 через NHS-эфир и оценивали его целостность после инкубации с 12,5%-, 25%- и 50%-ным содержанием сыворотки методом обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Инкубация с сывороткой крови привела к значительному снижению активности рицецилина: МИК увеличилась для всех тестируемых штаммов в 32 раза. В кондиционированной среде эффект был переменным: для одного штамма МИК не изменилась, для других зафиксировано увеличение в 4, 16 и 32 раза. С помощью ОФ-ВЭЖХ была установлена прямая связь между концентрацией сыворотки, скоростью деградации флуоресцентно меченного пептида и снижением его функциональной активности.

Рицецилин показал высокую эффективность против клинических изолятов *K. pneumoniae*, однако *in vivo* его активность резко падает из-за протеолиза. Разработанный метод ВЭЖХ-анализа меченого пептида в будущем позволит

напрямую оценивать деградацию АМП и целенаправленно отбирать его модифицированные, устойчивые к протеолизу формы.

1. Hancock R.E.W., Haney E.F. *et al.* // Nat. Rev. Immunol. 16, 321 (2016).
2. Smetanin R.V., Sukhareva M.S. *et al.* // Biochem. Biophys. Res. Commun. 712–713, 149913 (2024).

Разработка модели микроокружения поджелудочной железы для тестирования мультифункциональных терапевтических схем

Моничева В.¹, Иудина В.¹, Шаронов Г.¹, Изосимова А.¹, Яголович А.²,
Исакова А.^{2, 3}, Гаспарян М.³, Игнатова Н.¹, Дружкова И.¹

¹ Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

² Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

³ Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова, Москва, Россия

viktoriaomonicheva@gmail.com

Аденокарцинома поджелудочной железы остается одной из самых агрессивных злокачественных опухолей с крайне низким уровнем выживаемости и ограниченными терапевтическими возможностями. В настоящее время активно развиваются подходы к терапии через воздействие на компоненты опухолевого окружения [1–3]. Важным аспектом для оценки эффективности вновь разрабатываемых препаратов является использование моделей ко-культур, позволяющих учитывать взаимодействие злокачественных клеток с клетками микроокружения. Цель – разработка модели *in vitro* поджелудочной железы на основе опухолевых клеток, опухоль-ассоциированных фибробластов и эндотелиальных клеток для оценки эффективности мультифункциональных препаратов.

Материалы и методы:

- 1) клеточные линии: *bEnd.3* (эндотелиоциты), *3T3* (фибробласты), *MIA PaCa-2* (карцинома поджелудочной железы);
- 2) препараты: гемцитабин, рецептор-селективный цитокин TRAIL (DR5-B) [4], гибридный белок на основе DR5-B с доменами к рецептору VEGFR2 и к $\alpha\beta3$ -интегрину;
- 3) флуоресцентные красители: CFSE ($\lambda_{ex} = 488$ нм, $\lambda_{em} = 530/30$ нм), CMTPX ($\lambda_{ex} = 577$ нм, $\lambda_{em} = 602/12$ нм) Hoechst-33342 ($\lambda_{ex} = 405$ нм, $\lambda_{em} = 450/50$ нм);
- 4) клеточный сортер BD FACSAria™ III Cell Sorter (BD Biosciences);
- 5) флуоресцентный времяразрешенный имиджинг (FLIM) для оценки метаболического состояния клеток.

Было показано повышение резистентности *MIA PaCa-2* к терапевтическому воздействию в условиях ко-культивирования, влияние на клетки опухолевого микроокружения как при воздействии гемцитабина, так и при воздействии пептидов. С помощью метода FLIM зафиксированы различия в динамике метаболической активности клеток *MIA PaCa-2* в присутствии компонентов опухолевого окружения в сравнении с монокультурой. Самую

высокую гибель опухолевых клеток индуцировала комбинация гибридного белка с гемцитабином.

Показана возможность использования модели *in vitro* поджелудочной железы на основе трех типов клеток для оценки эффективности мультифункциональных препаратов.

В рамках гранта РФФ № 25-25-01078.

1. Zhang J., Wang X., Huang J. *et al.* Tumor Microenvironment and Cancer Metastasis: Role of Stromal Interactions in Disease Progression // *Front. Pharmacol.* 2024; 15: 1442888. doi:10.3389/fphar.2024.1442888.
2. Wu Z., Xiao Y., Li A. *et al.* Antitumor Therapy Targeting the Tumor Microenvironment: Recent Advances and Future Perspectives // *J. Oncol.* 2023; 2023: 10005879. doi:10.1155/2023/10005879.
3. Yang S., Fang Y., Ma Y. *et al.* Angiogenesis and Targeted Therapy in the Tumour Microenvironment: From Basic to Clinical Practice // *Clin. Transl. Med.* 2025; 15 (4): e70313. doi:10.1002/ctm2.70313.
4. Yagolovich A.V., Artykov A.A., Karmakova T.A. *et al.* Genetically Modified DR5-Specific TRAIL Variant DR5-B Revealed Dual Antitumor and Protumoral Effect in Colon Cancer Xenografts and an Improved Pharmacokinetic Profile // *Transl. Oncol.* 2020; 13 (6): 100762. doi: 10.1016/j.tranon.2020.100762.

Структурное исследование комплекса MIF с тартрат-ионом

Немчинова А. Р.¹, Соколов А. В.², Самыгина В. Р.¹

¹ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

² Научно-исследовательский институт гриппа им. А. А. Смородинцева, Санкт-Петербург, Россия

nemchinova19@mail.ru

Фактор ингибирования миграции макрофагов (MIF) является мультифункциональным белком, принадлежащим к семейству цитокинов. MIF представляет собой гомотример с молекулярной массой 37,5 кДа. MIF проявляет активность в роли регулятора иммунитета, показывает антишаперонную активность, ферментативную активность нескольких классов: изомеразную, тауомеразную [1], тиолоксидоредуктазную. MIF обладает провоспалительной активностью, что делает его мишенью для поиска эффективных ингибиторов – прототипов противовоспалительных средств. Поскольку истинный субстрат MIF до сих пор неизвестен, изучение структур с различными ингибиторами и потенциальными субстратами остается важной задачей.

Методом рентгеноструктурного анализа исследован комплекс MIF с миметиком нековалентного ингибитора – тартратом, который использовался в качестве осадителя при кристаллизации. Кристаллическая структура комплекса MIF с тартратом решена с разрешением 1,16 Å. Такое разрешение было достигнуто благодаря использованию кристаллизации в условиях микрогравитации и синхротронного излучения [2]. Набор дифракционных данных комплекса MIF с тартрат-ионом собран на станции синхротронного излучения BL41XU синхротрона Spring-8 (Хего, Япония). По результатам рентгеноструктурного анализа тартрат-ион был обнаружен в каждой субъединице в области активного центра. Мода связывания схожа с модой связывания фермента MIF-2 гомологичному MIF [3]. Благодаря околоатомному разрешению получены данные о связывании тартрат-иона в неизвестном ранее сайте, расположенном около аминокислотного остатка Asn6 в субъединице A. Сайт может являться регуляторным, а структура – служить для разработки новых ингибиторов, связывающихся в этом сайте.

Таким образом, получены новые данные о связывании тартрат-иона в активном центре MIF, а также в неизвестном ранее сайте.

Работа выполнена в рамках госзадания НИЦ «Курчатовский институт».

1. Rosengren E. *et al.* // Mol. Med. V. 2, 1996, p. 143–149.
2. Dubova K. *et al.* // Crystallogr. Rep. V. 63, p. 951–954.
3. Chen E. *et al.* // J. Biol. Chem. V. 297, 2021, p. 101061.

Новый биомаркер болезни Паркинсона у носителей вариантов в гене *GBA1* – соотношение активности глюкоцереброзидазы и уровня субстрата в периферической крови

Николаев М. А.^{1,2}, Копытова А. Э.^{1,2}, Изюмченко А. Д.^{1,2}, Артынюк А. В.^{1,2}, Байдакова Г. В.³, Милюхина И. В.⁴, Захарова Е. Ю.³, Пчелина С. Н.^{1,2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

³ Медико-генетический научный центр им. акад. Н. П. Бочкова, Москва, Россия

⁴ Институт мозга человека им. Н. П. Бехтеревой РАН, Санкт-Петербург, Россия

Nikolaev_MA@pnpi.nrcki.ru

Ген *GBA1* кодирует лизосомальный фермент глюкоцереброзидазу (GCase). Гомозиготное носительство вариантов этого гена вызывает болезнь Гоше (БГ) и является наиболее значимым генетическим фактором риска болезни Паркинсона (БП) [1]. У большинства гетерозиготных носителей вариантов *GBA1*, а также пациентов с БГ никогда в жизни не развиваются симптомы паркинсонизма. Актуален поиск биомаркеров и предикторов развития БП у носителей вариантов в гене *GBA1*.

Целью данной работы является оценка и сравнение биохимических характеристик периферической крови у носителей вариантов в гене *GBA1* среди пациентов с БП (*GBA1*-БП) и здоровых носителей (*GBA1*-носители).

В исследование вошло 30 пациентов с *GBA1*-БП (13 гетерозиготных носителей «легких» вариантов и 17 носителей «тяжелых» вариантов в гене *GBA1*), 23 *GBA1*-носителя (13 гетерозиготных носителей «легких» вариантов и 10 носителей «тяжелых» вариантов в гене *GBA1*) и 249 индивидуумов контрольной группы.

Ранее нами было показано снижение активности GCase и увеличение уровня субстрата в периферической крови у носителей вариантов в гене *GBA1* независимо от статуса БП [2]. В этом исследовании показано, что соотношение активности GCase и уровня субстрата (Акт/субстрат) снижено у *GBA1*-носителей по сравнению с контролем, а также позволяет дифференцировать пациентов с БП ($p = 0,007$). Был проведен ROC-анализ. Точка отсечения показателя Акт/субстрат $\leq 0,59$ (чувствительность метода 53,3 %, специфичность метода – 86,4 %, площадь под ROC-кривой 0,717 ($p = 0,003$)). У носителей «тяжелых» вариантов в гене *GBA1* показатель данного параметра $\leq 0,56$ (чувствительность метода 47,0 %, специфичность метода – 100 %, площадь под ROC-кривой 0,788 ($p = 0,001$)).

Соотношение активности GCase и уровня субстрата в периферической крови может служить перспективным предиктором развития БП у носителей вариантов в гене *GBA1*.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (тема № 1023031500037-7-1.6.8; 1.6.1; 1.6.2; 1.6.3).

1. Toffoli M., Smith L., Schapira A.H.V. // J. Neurochem. 2020; 154 (1): 11–24.
2. Kopytova A.E. *et al.* // Mov. Disord. 2022; 37 (8): 1779–1781.

**Влияние агрофитоценозов на базе люцерны изменчивой
на метаболический потенциал микробных сообществ почв
под длительным агротехническим воздействием**

*Носков С. А.¹, Тутубалина Н. А.¹, Ерофеева Т. В.¹, Лазарев Н. Н.²,
Мухина М. Т.³, Дивашук М. Г.⁴, Тоцаков С. В.¹, Авдеев С. М.⁴*

¹ Курчатовский геномный центр Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Москва, Россия

² Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева, Москва, Россия

³ Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии им. Д. Н. Прянишникова, Москва, Россия

⁴ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Россия

sergey.noskov.2001@icloud.com

Почвенная микробиота определяет биогеохимические процессы в агроэкосистемах, но подвергается антропогенному давлению от пахоты и минеральных удобрений, приводящему к снижению разнообразия и устойчивости [1–3]. Альтернатива – щадящее земледелие с фитомелиорацией бобовыми травами, такими как люцерна изменчивая, и оптимизация режимов скашивания [4, 5]. В рамках данного исследования был проведен анализ микробных сообществ (на основе секвенирования V4-региона гена 16S рНК) почв пахотного горизонта в агрофитоценозах люцерны и бобово-злаковых смесей (2- и 3-кратное скашивание) в сравнении с пашней и целиной. Экспериментальная работа проводилась на Полевой станции Российского государственного аграрного университета – Московской сельскохозяйственной академии им. К. А. Тимирязева. Образцы почвы отбирали и консервировали специализированным буферным раствором для транспортировки в лабораторию, где в свою очередь проводили выделение тотальной ДНК и подготовку библиотек региона V4 гена 16S рНК. Секвенирование осуществляли на платформе Illumina Miseq.

В результате биоинформатической обработки было выявлено, что микробное альфа-разнообразие по индексу Шеннона статистически значимо выше на пашне в сравнении с микробиомом агрофитоценоза люцерны. Кроме того, микробный состав чувствителен к различным режимам скашивания люцерны ($p = 0,007$). Анализ бета-разнообразия выявил, что тип фитоценоза ($R^2 = 0,372$, $p = 0,001$) и скашивание ($R^2 = 0,382$, $p = 0,001$) определяют структуру почвенного биотопа. Пашня – компактный кластер; целина гетерогенна; люцерна и ее смеси сходны.

Среди дифференциально представленных таксонов выделяются *Bradyrhizobium* ($\log_2 FC = 0,86$) и *Candidatus Udaeobacter* ($\log_2 FC = 0,97$) в агрофитоценозе люцерны.

Оценка метаболического потенциала микробных сообществ на основе ASV 16S-ампликонов (PICRUSt2, MaAsLin3) с филогенетическим позиционированием позволила реконструировать генные функции по базам MetaCyc и KEGG Orthology (KO). Ключевые метаболические пути (299 путей) в сравнении представленности между контрольными (образцы пашни и целины) и экспериментальными образцами показали значимые различия. Наблюдалось снижение анаэробных процессов: денитрификации ($\log_2 FC = -0,264$, $q = 0,0034$) и метаногенеза ($\log_2 FC = -0,998$, $q = 0,0030$), что отражает аэробизацию ризосферы бобовых, подавляющую факультативных анаэробов. Выявленное слабое повышение синтеза аргинина ($\log_2 FC = 0,032$, $q = 0,126$) – признак оптимизации белкового обмена при улучшенном N-питании.

Таким образом, было получено подтверждение преимуществ двухукосного режима для азотфиксирующих сообществ, который снижает нужду в минеральных удобрениях [5, 6].

1. Domnariu H. *et al.* Long-Term Impact of Tillage on Microbial Communities of an Eastern European Chernozem // *Sci. Rep.* 2025. V. 15. No. 1. P. 642.
2. Fernandez-Gnecco G. *et al.* Effect of Long-Term Agricultural Management on the Soil Microbiota Influenced by the Time of Soil Sampling // *Front. Soil Sci.* 2022. V. 2.
3. Khan M.H. *et al.* Conservation Tillage Practices Affect Soil Microbial Diversity and Composition in Experimental Fields // *Front. Microbiol.* 2023. V. 14. P. 1227297.
4. Ma W. *et al.* Root Exudates Contribute to Belowground Ecosystem Hotspots: A Review // *Front. Microbiol.* 2022. V. 13. P. 937940.
5. Qiao M. *et al.* Legume Rhizodeposition Promotes Nitrogen Fixation by Soil Microbiota under Crop Diversification // *Nat. Commun.* 2024. V. 15. No. 1. P. 2924.
6. Longepierre M. *et al.* Limited Resilience of the Soil Microbiome to Mechanical Compaction within Four Growing Seasons of Agricultural Management // *ISME Commun.* 2021. V. 1. No. 1. P. 44.

Повышенное содержание низкоэнтропийных молекул воды – важный индикатор активных центров белков млекопитающих

Панасенко С. А.¹, Петухов М. Г.^{1,2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

panasenko_s@npi.nrcki.ru

Взаимодействие белков с лигандами является основой большинства биологических процессов и ключевым аспектом в разработке лекарств. Важную роль в этом взаимодействии играет гидрофобный эффект. Вода, контактирующая с гидрофобными участками белка, образует упорядоченные структуры с пониженной энтропией [1]. Вытеснение этих низкоэнтропийных молекул воды (НЭВ) при связывании лиганда обеспечивает энтропийный выигрыш, способствуя стабилизации комплекса.

На основе кристаллографических данных [2] был разработан вычислительный подход для анализа распределения НЭВ. С его помощью изучены кристаллические структуры 20 белков (14 белков млекопитающих и 6 белков архей-термофилов). Сравнивались три области: активный центр, остальная поверхность и карманы, не связывающие лиганды.

Показано, что для обеих групп активные центры характеризуются статистически значимо более высокой долей НЭВ по сравнению с остальной поверхностью белка. Функционально важные различия были выявлены при сравнении известных активных центров с другими структурно-подобными карманами в структуре белков. У белков млекопитающих доля НЭВ в активном центре значительно выше, чем в любых других карманах. У древних белков архей такой специфичности не обнаружено – различия между активным центром и другими карманами отсутствуют.

Полученные результаты позволяют заключить, что высокое содержание НЭВ в гидратной оболочке активных центров белков млекопитающих, вероятно, является следствием длительного эволюционного пути развития, направленного на повышение эффективности и специфичности их ферментов. Таким образом, характер гидратации активного центра во многом определяет способность белков человека эффективно связывать лиганды и может служить критерием для поиска потенциальных сайтов связывания, пригодных в качестве мишеней в процессе разработки новых лекарственных препаратов.

Исследование частично поддержано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (грант № 075-15-2024-630).

1. Huggins D.J. Quantifying the Entropy of Binding for Water Molecules in Protein Cavities by Computing Correlations // *Biophys. J.* 2015. V. 108. P. 928–936.
2. Nakasako M. Water-Protein Interactions from High-Resolution Protein Crystallography // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B, Biol. Sci.* 2004. V. 359. P. 1191–1204; discussion 1204–1196.

Разработка дозиметрической модели для технологий нейтронозахватной терапии

Петруня Д. С.^{1,2}, Азаркин М. Ю.², Киракосян М. Р.², Раздрогова Я. В.²,
Касатов Д. А.³, Таскаев С. Ю.^{1,3,4}, Завестовская И. Н.^{1,2}

¹ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

² Физический институт им. П. Н. Лебедева РАН, Москва, Россия

³ Институт ядерной физики им. Г. И. Будкера СО РАН, Новосибирск, Россия

⁴ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

d.petrunya@lebedev.ru

В докладе представлены результаты моделирования методом Монте-Карло для планирования экспериментов по бор-нейтронозахватной терапии (БНЗТ). Для ускорительной установки VITA в программной среде Geant4 разработана и верифицирована модель нейтроногенерирующей системы [1]. С ее помощью рассчитано пространственное распределение компонент поглощенной дозы для программных фантомов различных биологических объектов: криоампул с клеточной суспензией [2], мышей с ксенографтными опухолями и головы животного со спонтанной опухолью. Оптимизированы конфигурация и состав системы формирования нейтронного поля, что позволило снизить вклад паразитного гамма-излучения в 2,5 раза и увеличить терапевтическую борную дозу до 2 раз. Отдельно в докладе рассмотрено применение описанных подходов для создания модели касательного горизонтального экспериментального канала № 7Б исследовательского ядерного реактора ИР-8 НИЦ «Курчатовский институт», на базе которого ведутся работы по созданию экспериментального стенда для проведения исследований в области БНЗТ. Разработанный инструментарий позволяет проводить детальное дозиметрическое планирование, что критически важно для обеспечения достоверности, воспроизводимости и безопасности экспериментальных исследований по БНЗТ.

1. Azarkin M., Zvestovskaya I., Kirakosyan M. *et al.* // Bull. Lebedev Phys. Institute. 52 (2), 72 (2025).

2. Петруня Д. С., Азаркин М. Ю., Завестовская И. Н. и др. // Письма в ЖТФ. 52 (4), 16 (2026).

Новый фармакологический шаперон глюкоцереброзидазы N2 способствует снижению концентрации гексозилсфингозина в головном мозге мышей с МФТП-индуцированным паркинсонизмом

*Пидюрчина В. Н.¹, Лавринова А. О.^{1,2}, Руденок М. М.³, Рыболовлев И. Н.³,
Байдакова Г. В.⁴, Захарова Е. Ю.⁴, Сломинский П. А.³,
Емельянов А. К.^{1,2}, Пчелина С. Н.^{1,2}*

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

³ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

⁴ Медико-генетический научный центр им. акад. Н. П. Бочкова, Москва, Россия

pidyurchina.vn@gmail.com

Мутации в гене *GBA1*, кодирующем лизосомный фермент глюкоцереброзидазу (GCase), являются фактором высокого риска развития болезни Паркинсона (БП). Показано снижение активности GCase и повышение концентрации ее субстрата гексозилсфингозина (HexSph) у пациентов с *GBA1*-ассоциированной формой БП (*GBA1*-БП) в клетках мозга и периферической крови [1]. В настоящее время для известного фармакологического шаперона (ФШ) GCase смешанного типа амброксола проводятся клинические испытания для терапии *GBA1*-БП [2]. Предложенный нами ранее ФШ GCase аллостерического типа N2 показал эффективность на пациент-специфичных клетках пациентов с *GBA1*-БП [3].

Целью исследования являлась оценка влияния ФШ GCase (N2, амброксол) на активность GCase и концентрацию HexSph в мозге мышей с МФТП-индуцированным паркинсонизмом.

Для создания модели ранней симптомной стадии БП использовали 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП) (4 · 12 мг/кг на 7-й день). Животным, разделенным на 3 группы ($n = 5$), вводили: первой группе – ФШ GCase N2 (22 мг/кг 1–6-й дни, 11 мг/кг 9–14-й дни), второй группе – ФШ GCase амброксол (70 мг/кг 1–6-й дни, 35 мг/кг 9–14-й дни), контрольной группе – растворитель (15 мл/кг 1–6-й дни и 7,5 мл/кг 9–14-й дни). Оценку ферментативной активности GCase и концентрации HexSph в префронтальной коре (ПФК) проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemной масс-спектрометрией. Статистический анализ данных был выполнен с использованием программы SPSS 21.0.

В ПФК мозга мышей с МФТП-индуцированным паркинсонизмом после введения животным амброксола выявлено снижение концентрации HexSph (нг/мг общего белка; амброксол – 0,32 (0,22–0,78), $p = 0,043$ и N2 – 0,51 (0,36–

0,79), $p = 0,043$) по сравнению с контролем (0,83 (0,77–0,85)). Не обнаружено влияния ФШ GCase N2 и амброксола на активность GCase.

Таким образом, в результате данного исследования показано, что ФШ GCase аллостерического типа N2 способствует снижению концентрации HexSprh в ПФК мозга мышей с МФТП-индуцированным паркинсонизмом.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500037-7-1.6.8; 1.6.1; 1.6.2; 1.6.3 «Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза социально значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения»).

1. Hertz E. *et al.* Gaucher Disease Provides a Unique Window into Parkinson Disease Pathogenesis // Nat. Rev. Neurol. 20 (9), 526–540 (2024).
2. Siemeling O. *et al.* Study Protocol of the GRoningen Early-PD Ambroxol Treatment (GREAT) Trial: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Single Center Trial with Ambroxol in Parkinson Patients with a GBA Mutation // BMC Neurol. 24 (1), 146 (2024).
3. Байдакова Г. В. и др. Аллостерический фармакологический шаперон, восстанавливающий функцию глюкоцереб্রозидазы: пат. РФ № 2809824 С1, приоритет от 19.12.2023.

Оптимизация концентрации антител к актину гладкомышечных клеток для визуализации сосудов, ассоциированных с почечным тельцем

Подсумкова Ю. М.^{1,2}, Кирик О. В.¹, Коржевский Д. Э.¹

¹ *Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия*

² *Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия*

julia_pods@mail.ru

Своевременное выявление патологии сосудов почек является важной задачей клинической и патологоанатомической диагностики. Для правильной морфологической оценки состояния сосудов необходимо иметь высокоселективные методы, к которым относятся методы иммуногистохимии.

Цель работы состояла в определении концентрации антител к альфа-актину гладкомышечных тканей, при которой возможно выявление сосудов, ассоциированных с почечным тельцем.

В качестве материала для исследования были использованы парафиновые срезы почки крысы. Парафиновые блоки были получены из архива отдела общей и частной морфологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины». После удаления парафина и регидратации срезов была поставлена иммуногистохимическая реакция на альфа-актин с использованием первичных мышинных моноклональных антител (клон 1A4) против гладкомышечного альфа-актина (Agilent, США) в разведениях 1:600 и 1:300. После проводилась подкраска альциановым синим для облегчения ориентации в структурах ткани.

Снимки окрашенных препаратов были сделаны с помощью микроскопа Leica DM750 и камеры ICC 50 (Leica, Германия). При обоих разведениях хорошо определяются структуры коркового и мозгового вещества почки. Однако при разведении антител 1:300 вблизи сосудистого полюса почечного тельца и в ряде клубочков среди их петель выявляются отдельные иммунопозитивные элементы, которые могут являться отростками подоцитов, поддерживающих структуру сосудистого клубочка [1].

Подоциты являются особыми клетками, способными экспрессировать ряд белков промежуточных филаментов, в том числе десмин, характерный для мышечных клеток [1]. Учитывая многофункциональность подоцитов и отсутствие актина в эндотелии, иммунопозитивные структуры клубочка с большей вероятностью являются их отростками, а не мезангиальными клетками.

Работа выполнена за счет средств государственного задания ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» FGWG-2024-0015.

1. May C.J., Saleem M., Welsh G.I. Podocyte Dedifferentiation: A Specialized Process for a Specialized Cell // Front. Endocrin. 2014. 5.

Модульная система экспрессии химерных S-белков в *Lactobacillus brevis* для рекомбинантных вакцин

Приданова М. Д.^{1,2}, Селимзянова А. И.^{1,2}, Рыков С. В.¹, Березина О. В.^{1,2}

¹ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

² Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия

pridanova.md@phystech.edu

Пробиотические лактобактерии являются перспективной платформой для создания рекомбинантных вакцин нового поколения. Благодаря безопасности, адьювантным свойствам и адгезии к слизистым оболочкам человека и животных лактобациллы могут быть использованы для адресной доставки антигенов [1].

S-слой лактобацилл – поверхностный белковый слой с квазикристаллической структурой. S-белки лактобацилл обычно включают домен самосборки и якорный домен для фиксации на клеточной стенке. Химерные S-белки способны к самосборке на клеточной стенке и экспонированию чужеродных эпитопов [1, 2].

Цель работы – конструирование плазмидного вектора для индуцируемой экспрессии химерных S-белков в *Levilactobacillus brevis*.

На основе челночного вектора pHYc [3] сконструирована плаزمида pHYc-xylAR-slp-cherry-term, содержащая химерный ген, кодирующий слитый белок SlpE-mCherry, состоящий из N-концевого якорного домена белка SlpE из *L. brevis* ATCC 367 и флуоресцентного белка mCherry. Экспрессия гена регулируется ксилозо-индуцируемым промотором P_{xyl} и репрессором XylR из *Bacillus subtilis*. Структуру химерного белка моделировали в AlphaFold2 для визуализации расположения доменов.

Индуцируемая экспрессия SlpE-mCherry подтвердилась окрашиванием в красный цвет клеток рекомбинантного штамма *E. coli* / pHYc-xylAR-slp-cherry-term при выращивании их на среде с ксилозой.

Затем плазмидой pHYc-xylAR-slp-cherry-term успешно трансформировали компетентные клетки *L. brevis* ATCC 367. Ксилозо-индуцируемую экспрессию SlpE-mCherry подтвердили флуоресцентной микроскопией. Наблюдалось красное свечение клеток *L. brevis*, содержащих рекомбинантную плазмиду.

Модульная кассетная система контролируемой экспрессии химерных S-белков в лактобациллах позволяет заменять промоторы, якорные и функциональные домены для создания вариантов химерных S-белков. Это открывает перспективу использования лактобацилл в качестве средств доставки антигенов и биологически активных молекул.

Исследование выполнено в рамках государственного задания
НИЦ «Курчатовский институт».

1. Rykov S.V., Yegorov Y.E., Vishnyakova H.S., Berezina O.V. Designing a Cell Surface Display System of Protein Domains in Lactobacilli Based on S-Layer Proteins of *Lactobacillus Brevis* ATCC 367 // Russ. J. Bioorg. Chem. – 2018. – V. 44. – P. 199–209. <https://doi.org/10.1134/S1068162018010156>.
2. Avall-Jääskeläinen S., Kylä-Nikkilä K., Kahala M. *et al.* Surface Display of Foreign Epitopes on the *Lactobacillus Brevis* S-Layer // Appl. Environ. Microbiol. – 2002. – V. 68 – No. 12. – P. 5943–51.
3. Iijima K., Suzuki K., Ozaki K., Yamashita H. HorC Confers Beer-Spoilage Ability on Hop-Sensitive *Lactobacillus Brevis* ABBC45cc // J. Appl. Microbiol. – 2006. – V. 100 – No. 6. – P. 1282–1288. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02869.x>.

Сравнительная характеристика штаммов *Saccharomyces cerevisiae* по потребности в азотистых соединениях и их влиянию на метаболизм органических кислот

Провоторова Е. А., Толкачева В. А., Пожидаев В. М., Камаев А. В.,
Федосов Д. Ю.

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва,
Россия

ekaterina.provt@gmail.com

Доступность азотистых соединений является ключевым фактором, регулирующим метаболизм винных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в процессе брожения, непосредственно влияя как на рост биомассы, так и на формирование органолептического профиля вина [1]. Дрожжи способны усваивать азот из аммонийных и органических соединений, однако потребность в азотистых соединениях штамм-специфична [2], определяет метаболизм дрожжей и образование вторичных продуктов брожения, концентрацию органических кислот и синтез глицерина [3, 4]. При избытке неорганического азота дрожжи выделяют аминокислоты во внешнюю среду вследствие дисбаланса между их синтезом и внутриклеточным потреблением, что создает условия для развития посторонней микробиоты, способной негативно повлиять на органолептические свойства вина [5].

Для оценки потребности исследуемых штаммов в азотистых соединениях культивирование проводили в среде, содержащей NH_4Cl 0 до 500 мг/л. Метаболизм органических кислот анализировали в процессе брожения сусле сорта «совиньон-блан». Было показано, что азотистые соединения определяют динамику численности клеток, что позволяет разделить штаммы на фенотипы по типу азотного метаболизма. Выделяются группы с низкой, умеренной и высокой потребностью в азоте, большинство штаммов демонстрируют максимальный рост при концентрациях NH_4Cl 300–400 мг/л и проявляют чувствительность к избытку азота, теряя жизнеспособность при концентрации 500 мг/л. Доступность азота также напрямую меняет метаболизм органических кислот и, как следствие, кислотный профиль вина. Высокие концентрации азота стимулируют синтез молочной кислоты и глицерина, что коррелирует с активным ростом биомассы, одновременно подавляя образование янтарной кислоты, а также снижая содержание яблочной кислоты. Динамика лимонной и уксусной кислот при этом носит штамм-специфичный характер.

Таким образом, азот является ключевым и штамм-специфичным регулятором, влияющим на скорость брожения и метаболизм органических

кислот, что требует точного дозирования подкормок во время брожения для контроля кислотного профиля вина.

1. Gobert A., Tourdot-Maréchal R. *et al.* Influence of Nitrogen Status in Wine Alcoholic Fermentation // *Food Microbiol.* 83 (2019).
2. Brice C., Sanchez I. *et al.* A Genetic Approach of Wine Yeast Fermentation Capacity in Nitrogen-Starvation Reveals the Key Role of Nitrogen Signaling // *BMC Genomics.* 19; 15 (1): 495 (2014).
3. Pérez D., Jaehde I. *et al.* Screening of *Saccharomyces* Strains for the Capacity to Produce Desirable Fermentative Compounds under the Influence of Different Nitrogen Sources in Synthetic Wine Fermentations // *Food Microbiol.* 97 (2021).
4. Vilanova M., Ugliano M. *et al.* Assimilable Nitrogen Utilisation and Production of Volatile and Non-Volatile Compounds in Chemically Defined Medium by *Saccharomyces Cerevisiae* Wine Yeasts // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 77 (1): 145–57 (2007).
5. Ponomarova O., Gabrielli N. *et al.* Yeast Creates a Niche for Symbiotic Lactic Acid Bacteria Through Nitrogen Overflow // *Cell Syst.* 5–4 (2017).

Скрининг протеолитической активности штаммов молочнокислых бактерий для повышения питательной ценности кормов

Пустынская А. С., Филимонова А. В., Намсараев З. Б.

Курчатовский геномный центр Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Москва, Россия

Pustynskaya_AS@nrcki.ru

Молочнокислые бактерии (МКБ) играют важную роль в повышении безопасности, качества и питательной ценности кормов. Благодаря способности к синтезу биологически активных метаболитов, включая молочную кислоту и незаменимые аминокислоты, МКБ улучшают усвоение питательных веществ и качество конечных продуктов. Они способны подавлять рост патогенных микроорганизмов и положительно влияют на микробиоту кишечника животных, что обуславливает их широкое применение в животноводстве и птицеводстве [1].

Высокая биотехнологическая ценность МКБ связана с активностью их ферментативных систем, в том числе протеаз и липаз, которые гидролизуют белки, жиры и углеводы до более простых соединений. Микробные протеазы особенно востребованы в пищевой и кормовой промышленности, так как повышают биодоступность и питательную ценность белковых субстратов [2]. В связи с этим целью работы было проведение скрининговой оценки протеолитической активности различных штаммов молочнокислых бактерий из коллекции ВКПМ, относящихся к родам *Lactobacillus*, *Lactiplantibacillus* и *Mycrobacterium*, для подбора наиболее эффективных культур в целях улучшения качества кормов для животных.

В работе исследовали протеолитическую активность 13 штаммов молочнокислых бактерий методом измерения диаметров зон лизиса на агаровых чашках в динамике, как описано в работе [3]. Была использована среда следующего состава: казеин 5 г/л, дрожжевой экстракт 2,5 г/л, сухое обезжиренное молоко 28 г/л, агар 15 г/л. Суспензии микроорганизмов вносились объемом по 100 мкл в лунки диаметром 7 мм. Бактериальные культуры инкубировали при 30 °С. Измерение диаметров прозрачных зон проводили через 24, 48 и 72 ч.

По результатам скрининга выявлены штаммы с потенциально высокой протеолитической активностью, размер прозрачных зон которых в 3,5–4 раза превышал размер прозрачных зон остальных штаммов бактерий. Штаммы видов *Lactobacillus casei* B7609, *Lactobacillus plantarum* 8014 и *Lactobacillus fermentum* DSM 2537, показавшие наибольшую активность, определены как перспективные для дальнейших работ по созданию белково-витаминных препаратов из растительного сырья.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатковский институт».

1. Brashears M.M., Amezquita A., Jaroni D. Lactic Acid Bacteria and Their Uses in Animal Feeding to Improve Food Safety // *Adv. Food Nutrit. Res.* – 2005. – V. 50. – P. 1–31.
2. Kieliszek M. *et al.* Characteristics of the Proteolytic Enzymes Produced by Lactic Acid Bacteria // *Molecules.* – 2021. – V. 26. – No. 7. – P. 1858.
3. Phyu H.E., Oo Z.K., Aye K.N. Screening on Proteolytic Activity of Lactic Acid Bacteria from Various Yogurts and Fermented Milk // *Int. J. Adv. Sci. Eng. Technol.* – 2015. – V. 5. – P. 34–37.

Малые открытые рамки считывания в 5'-UTR мРНК *PEX26* человека регулируют пролиферацию клеток

*Разумова Е. А.^{1,2}, Макарюк А. М.¹, Шепелев Н. М.^{1,3},
Донцова О. А.^{1,2,3,4}, Рубцова М. П.^{1,3}*

¹ *Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия*

² *Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия*

³ *Институт биоорганической химии им. академ. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, Россия*

⁴ *Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия*

elizaveta_razumova@list.ru

Открытые рамки считывания (uORF) в 5'-UTR (нетранслируемой области) мРНК представляют собой важные элементы генома, способные модулировать трансляцию кодирующей последовательности (CDS) путем контроля инициации или кодировать функциональные микропептиды [1–3].

В ходе полногеномного CRISPR/Cas-скрининга uORF было установлено влияние uORF в 5'-UTR мРНК *PEX26* на пролиферацию клеточной линии человека HAP1. Данные рибосомного профилирования свидетельствуют о наличии трех uORF в 5'-UTR основной изоформы мРНК *PEX26*. Мутации в 5'-UTR, затрагивающие эти uORF, приводили к более выраженному снижению пролиферации по сравнению с мутациями в CDS, внесенными с помощью CRISPR/Cas9. Данный факт позволяет предположить, что uORF кодирует функциональный микропептид. Для уточнения вклада отдельных вариантов выполнено высокопроизводительное секвенирование, позволившее определить спектр мутаций и выделить изменения, ассоциированные с наибольшим эффектом на пролиферацию клеток.

Роль uORF в регуляции трансляции CDS оценивали в системе двойного люциферазного репортера путем замены стартовых кодонов uORF на неиницирующие, что позволяло количественно оценить влияние отдельных uORF на трансляцию CDS. Показано, что uORF3, расположенная проксимально к CDS, оказывает выраженное ингибирующее действие на трансляцию, тогда как uORF1, локализованная ближе к 5'-концу, напротив, стимулирует трансляцию CDS. uORF2, расположенная между ними, не оказывает выраженного влияния на трансляцию. Дополнительно установлено, что при альтернативном сплайсинге возможна изоформа со слиянием uORF1 и uORF3. Объединенная uORF демонстрирует ингибирующее действие на трансляцию CDS, указывая на сплайсинг-зависимую перестройку трансляционного контроля.

В совокупности полученные результаты указывают на функциональную значимость uORF в 5'-UTR мРНК *PEX26*, проявляющуюся как в регуляции трансляции основной кодирующей последовательности, так и в продукции потенциального микропептида, обладающего независимой биологической активностью. С учетом связи *PEX26* с патологическими фенотипами [4] полученные результаты могут представлять интерес не только с фундаментальной, но и с медицинской точки зрения.

1. Leppik K., Das R. *et al.* // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 19 (2018).
2. Razumova E., Makariuk A. *et al.* // *Int. J. Mol. Sci.* 26, 5 (2025).
3. Mohsen J. J., Martel A. A. *et. al.* // *Proteomics.* 23 (2023).
4. Tanaka A. J., Okumoto K. *et al.* // *Cold Spring Harb. Mol. Case Stud.* 5, 1 (2019).

Генетически кодируемые метки для мультимодального мониторинга клеток метастатической опухоли легкого

Рожкова И. Е.¹, Петрова А. С.¹, Габашвили А. Н.¹, Дресвянникова А. А.¹,
Голиусова Д. В.², Сосновцева А. О.³, Никитин П. И.¹

¹ Институт общей физики им. А. М. Прохорова РАН, Москва, Россия

² Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины
им. акад. Ю. М. Лопухина ФМБА, Москва, Россия

³ Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

Irishka.irinka.ira090304@yandex.ru

Молекулярная визуализация способствует разработке и улучшению моделей злокачественных новообразований *in vivo*. Разработка методов визуализации опухолевых метастаз имеет особое значение, поскольку легкие являются вторым по частоте местом локализации метастатических очагов: до 54 % злокачественных опухолей [1, 2].

Нами были получены две новые генетические конструкции, каждая из которых содержит два репортерных гена под контролем конститутивного промотора SV40, разделенных элементом внутреннего сайта посадки рибосом. Первый ген кодирует бактериальные нанокompартменты бактерии *Quasibacillus thermotolerans* (Qt), которые окисляют Fe⁺² до Fe⁺³ и формируют магнитные наночастицы (МНЧ) [3, 4]. Второй кодирует либо люциферазу светлячка (Fluc), либо высокоинтенсивную NanoLuc (Nluc) люциферазу. Методом лентивирусной трансдукции генетические конструкции были успешно встроены в клеточную линию карциномы легкого мыши (LLC).

Результаты исследований *in vitro* подтвердили стабильную экспрессию генов Qt-Fluc и Qt-Nluc в полученных клеточных линиях. Устойчивый биолюминесцентный сигнал Nluc был зарегистрирован с помощью спектрофотометрии и оптической томографии. Образование МНЧ в нанокompартментах было оценено методом окраски по Перлсу, а также с помощью магнитометрии. Для *in vivo* исследования клетки полученных линий были использованы для моделирования опухолей на мышах линии C57BL.

Таким образом, нами были разработаны и охарактеризованы новые репортерные системы для двойной неинвазивной визуализации клеток карциномы легкого. Полученные клетки позволяют существенно улучшить единственную воспроизводимую модель карциномы легкого мыши, а также обеспечивают возможность мультимодальной визуализации клеток *in vivo* с помощью структурных (МРТ) и функциональных (биолюминесцентная визуализация) методов исследования [5]. Полученные генетические конструкции представляют мощную и воспроизводимую платформу для неинвазивного изучения динамики метастазирования и оценки терапии различных опухолей.

1. Morath V., Fritschle K., Warmuth L. *et al.* // Nat. Biomed. 9, 1886–1906 (2025).
2. Cunningham A., Kirk M., Hong E. *et al.* // Front. Toxicol. 6, 1376587 (2024).
3. Gabashvili A.N., Namestnikova D.D., Gulyaev M.V. *et al.* // Stem. Cell Res. Ther. 16, 637 (2025).
4. Gabashvili A.N., Chmelyuk N.S., Oda V.V. *et al.* // Pharmaceutics 15, 2422 (2023).
5. Milovanova M.V., Gabashvili A.N., Mochalova E.N. *et al.* // Front. Bioeng. Biotechnol. 13, 1680057 (2025).

Анализ влияния мутаций в гене *ilvN* на структуру и функции ацетолактатсинтазы *Corynebacterium glutamicum*

Розанцева В. В., Шереметьева М. Е., Дерунец А. С., Леонова Т. Е.,
Калинина Т. И., Яненко А. С.

НИЦ «Курчатовский институт», Курчатовский геномный центр, Москва, Россия

v.rozantseva@bk.ru

Corynebacterium glutamicum – высокоэффективная платформа для промышленного производства аминокислот, включая незаменимую аминокислоту валин. Ключевой фермент биосинтеза валина – ацетолактатсинтаза (AHAS), состоящая из двух пар субъединиц: каталитических (IlvB) и регуляторных (IlvN). Активность AHAS имеет решающее значение для продукции валина, поэтому гены данного фермента – важная мишень для модификации при разработке штаммов-продуцентов [1].

Процессы создания штаммов-продуцентов и изучения фундаментальных свойств белков, участвующих в продукции целевого вещества, неразрывно связаны и взаимно дополняют друг друга. Так, для повышения активности AHAS при создании продуцента валина мы используем известные мутации в гене *ilvN*, снимающие эффект ретроингибирования фермента [2, 3], и занимаемся поиском новых, более эффективных мутаций. Подобные мутации могут возникать спонтанно, наряду с другими, которые, наоборот, инактивируют AHAS и уменьшают продукцию валина [4]. Любые изменения генов, ведущие к изменению ферментативной активности, дают информацию для анализа, цель которого – более глубокое понимание структуры и функции фермента.

Мы осуществили такой анализ, смоделировав белок IlvN с различными мутациями в программе AlphaFold [5] и оценив его стабильность с помощью онлайн-сервиса DDGemb [6]. Выяснилось, что мутации в гене *ilvN*, инактивирующие AHAS, приводят к изменению структуры белка и к его дестабилизации [7]. Мутации, повышающие активность фермента, напротив, в ряде случаев стабилизируют белок IlvN, что также было продемонстрировано на использованных нами моделях.

Таким образом, мы показали связь между аминокислотной последовательностью белка IlvN, его структурой и функцией AHAS, из чего сделали вывод, что модели, с которыми мы работаем, – адекватны и могут применяться для конструирования новых мутаций, повышающих активность фермента.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-64-00031, <https://rscf.ru/project/25-64-00031>.

1. Шереметьева М. Е. и др. Рациональная метаболическая инженерия *Corynebacterium glutamicum* для продукции L-валина // Вавиловский журн. генет. и селекц. 26 (8), 743–757 (2022).
2. Elišáková V. *et al.* Feedback-Resistant Acetohydroxy Acid Synthase Increases Valine Production in *Corynebacterium Glutamicum* // Appl. Environ. Microbiol. 71 (1), 207–213 (2005).
3. Hasegawa S. *et al.* Improvement of the Redox Balance Increases L-Valine Production by *Corynebacterium Glutamicum* under Oxygen Deprivation Conditions // Appl. Environ. Microbiol. 78 (3), 865–875 (2012).
4. Шереметьева М. Е. и др. Стабилизация сверхсинтеза L-валина в штаммах-продуцентах на основе *Corynebacterium glutamicum* // Биотехнология. 40 (7), 242 (2024).
5. Savojardo C. *et al.* DDGemb: Predicting Protein Stability Change upon Single- and Multi-point Variations with Embeddings and Deep Learning // Bioinformatics. 41 (1), btaf019 (2025).
6. Mirdita M. *et al.* ColabFold: Making Protein Folding Accessible to All // Nat. Methods. 19 (6), 679–682 (2022).
7. Шереметьева М. Е. и др. Мутации в гене *ilvN* критически важны для продукции L-валина клетками *Corynebacterium glutamicum* // Биотехнология. 41 (1), 195–198 (2025).

Исследование взаимодействия антистоксовых нанофосфоров с перитонеальными макрофагами мышей

Ронт Д. И., Коваленко Т. А., Татарникова А. В., Баушева Д. К., Гурьев Е. Л.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

tnor04@yandex.ru

Одним из многообещающих направлений для решения проблем, с которыми сталкивается современная фармакология, является разработка тераностических препаратов и стратегий адресной доставки лекарств.

Антистоксовые нанофосфоры (НАФ) являются перспективной платформой для тераностики. В качестве систем доставки наночастиц могут быть использованы клеточные носители, например макрофаги.

Целью данной работы являлось исследование свойств НАФ, покрытых биосовместимыми оболочками, а также изучение взаимодействия НАФ с перитонеальными макрофагами мышей *in vitro*.

НАФ состава $\text{NaYF}_4:\text{Yb},\text{Tm}$ демонстрируют фотолюминесценцию с максимумами эмиссии в видимой (при 450 и 474 нм) и в ближней инфракрасной (при 801 нм) области при возбуждении светом с длиной волны 980 нм. НАФ были покрыты оболочкой из сополимера малеинового ангидрида с 1-октадеценом (СМАОД) и полиэтиленгликолем (ПЭГ). Средний гидродинамический диаметр частиц составил 97 нм, индекс полидисперсности (PDI), равный 0,142, указывает на умеренную однородность образца.

Перитонеальные макрофаги были выделены из мышей линии Balb/C и охарактеризованы методами иммунофлуоресцентного окрашивания с использованием антител к ключевым поверхностным маркерам для идентификации субпопуляций макрофагов и с помощью окрашивания витальным красителем нильским красным и визуализации накопления НАФ в макрофагах. Для исследования биodeградации НАФ в макрофагах выделенные клетки инкубировали с НАФ–СМАОД–ПЭГ, измеряя интенсивность их фотолюминесценции через различные временные промежутки.

Установлено, что комплексы НАФ–СМАОД–ПЭГ эффективно накапливаются перитонеальными макрофагами уже через 3 ч инкубации, а в течение 6 ч после поглощения значительной деградации НАФ–СМАОД–ПЭГ не происходит.

Проведенные исследования демонстрируют перспективность использования НАФ и перитонеальных макрофагов для адресной доставки препаратов в опухолевые очаги в брюшной полости.

Исследование было поддержано Российским научным фондом, проект № 25-24-20148, <https://rscf.ru/en/project/25-24-20148/> (региональная часть – Соглашение с Министерством образования и науки Нижегородской области № 316-06-16-35/25).

Функциональная валидация тканеспецифического нокаута Hif1 α в эмбрионах мыши на уровне единичных клеток

Рубцов Д. Е.^{1,2}, Коробейников В. Ю.^{3,4}, Юсина П. М.², Денисов Е. В.^{3,5},
Пантелеев А. А.^{1,2}

¹ Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

³ Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск, Россия

⁴ Институт урологии и клинической онкологии, Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

⁵ Научно-исследовательский институт молекулярной и клеточной медицины, Медицинский институт, Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

de.rubtsov@yandex.ru

Гипоксический фактор HIF1 α является ключевым регулятором клеточного метаболизма и дифференцировки, однако его вклад в формирование эпидермальных клеточных популяций в эмбриогенезе остается недостаточно изученным [1]. Транскрипционный анализ на уровне единичных клеток (single cell RNA sequencing, scRNA-seq) представляет собой чрезвычайно эффективный подход к решению подобных вопросов [2]. В данной работе проведен анализ scRNA-seq-данных эмбрионов мыши на стадиях развития E12.5 и E14.5 как дикого типа (WT), так и с тканеспецифическим нокаутом Hif1 α в *Krt14*⁺-клетках (КО).

Для каждого образца выполнена биоинформатическая предобработка данных секвенирования РНК отдельных клеток с последующей интеграцией в единый объект и аннотацией клеточных типов. Для функциональной оценки активности HIF-зависимого сигнального пути был рассчитан HIF-score, отражающий суммарную экспрессию ключевых генов-мишеней HIF1 α (*Vegfa*, *Slc2a1*, *Ldha*, *Pdk1*, *Pgk1*, *Egln3*) в *Krt14*⁺- и *Krt5*⁺-клетках (базальный слой эмбрионального эпидермиса).

Показано, что в *Krt14*⁺- и *Krt5*⁺-клетках эмбрионов с нокаутом Hif1 α наблюдается статистически значимое снижение HIF-score по сравнению с WT. Анализ экспрессии генов *Arnt*, *Epas1* (*Hif2 α*) и *Hif3 α* не выявил признаков компенсаторной активации HIF-сигнального пути. Полученные результаты подтверждают функциональную эффективность тканеспецифического нокаута Hif1 α и демонстрируют пригодность данной модели и scRNA-seq-подхода для дальнейшего изучения влияния утраты HIF1 α на формирование и

функциональную специализацию эпидермальных клеточных популяций в эмбриональном развитии.

Работа поддержана внутренним грантом НИЦ «Курчатовский институт» № 1ф.2.1.

1. Rezvani H.R., Ali N., Nissen L.J. *et al.* // J. Invest. Dermatol. 131, 1793 (2011).
2. Jacob T., Annusver K., Czarnewski P. *et al.* // Dev. Cell. 58, 2140 (2023).

Роль ламинина $\alpha 5$ (LAMA5) в ангиогенезе тканей колоректальной аденокарциномы

Савицкий С. А., Арсентьев К. А., Южалин А. Е.

*Научно-технологический университет «Сириус», Научный центр трансляционной
медицины, пгт. Сириус, Краснодарский край, Россия*

savitsky.savelij@yandex.ru

В исследовании проанализирована взаимосвязь экспрессии ламинина $\alpha 5$ (LAMA5) и молекулы клеточной адгезии меланомы (MCAM/CD146) в тканях опухоли колоректального рака (КРР). Актуальность обусловлена высокой распространенностью КРР и недостаточным пониманием роли внеклеточного матрикса в опухолевом микроокружении. Цель – изучить связь экспрессии LAMA5 и MCAM/CD146 в этих тканях. Исследование проведено на гистологических срезах опухоли кишечника ($N = 8$) с иммуноокрашиванием и количественным анализом с помощью ImageJ и GraphPad Prism. Корреляционный анализ Спирмена выявил слабую положительную связь уровней экспрессии и умеренную корреляцию интенсивностей флуоресценции. Анализ RNA-seq (TCGA, GEO) подтвердил статистически значимую умеренную положительную корреляцию между генами MCAM и LAMA5. Выводы указывают на локализацию LAMA5 вдоль сосудистой сети КРР и его возможную роль в ангиогенезе опухоли.

Колоректальный рак (КРР) – один из самых распространенных типов злокачественных новообразований [1]. Уровень экспрессии LAMA5 повышен в опухолевых тканях КРР и связан с риском рецидива и метастазирования, участвуя в клеточной адгезии и миграции, активируется воспалительными медиаторами и влияет на ангиогенез [2, 3]. CD146 (MCAM) – эндотелиальный маркер, регулирует метастазирование и химиорезистентность опухолевых клеток через пути, включающие VEGF [4]. Цель исследования – оценить уровни экспрессии LAMA5 и CD146 и их ко-локализацию в опухолевых тканях пациентов с КРР.

Изучены резецированные образцы опухолей кишечника от пациентов с КРР ($N = 8$). Проведено иммунофлуоресцентное окрашивание с антителами к LAMA5 и CD146, фиксация и блокирование неспецифических связываний, инкубация с первичными и флуоресцентными вторичными антителами, монтаж с DAPI. Микрофотографии сделаны на конфокальном микроскопе. Количественная оценка экспрессии и ко-локализации выполнена в ImageJ. Анализ РНК-секвенирования с использованием массивов данных из GEO (GSE39582, GSE41258) и TCGA с последующим расчетом корреляции Спирмена

для уровней экспрессии генов *MCAM* и *LAMA5* [5, 6]. Статистическая обработка производилась в GraphPad Prism с непараметрическим тестом Спирмена.

Корреляционный анализ между зонами экспрессии *LAMA5* и *CD146* показал слабую положительную тенденцию ($r = 0,143$, $p = 0,752$), не достигшую значимости из-за малой выборки. Аналогично анализ интенсивности флуоресценции выявил умеренную и статистически не значимую корреляцию ($r = 0,571$, $p = 0,151$), свидетельствующую о тенденции *LAMA5* к коэкспрессии с сосудистой сетью опухоли. Коэффициенты корреляции Мандерса показали слабую и умеренную степень ко-локализации белков ($r = 0,395$) в среднем 17,1 % для *CD146* и 20,97 % для *LAMA5*. Биоинформатический анализ массивов TCGA, GSE39582 выявил статистически значимую умеренную положительную корреляцию между экспрессией *MCAM* и *LAMA5* ($p < 0,0001$, $r = 0,302$)

Ко-локализация *LAMA5* и *CD146* отражает ассоциацию *LAMA5* с процессом ангиогенеза, что подтверждается иммуногистохимией и биоинформатическим анализом экспрессии генов. *LAMA5* как компонент базальной мембраны регулирует адгезию и миграцию эндотелиальных клеток, стимулирующих ангиогенез при КРР. *CD146* ко-активирует VEGFR-2, являясь маркером сосудистой сети, усиливает ангиогенез и обеспечивает химиорезистентность. Их взаимодействие активирует сигнальные пути (PI3K/Akt, FAK), влияющие на рост и метастазирование опухоли. Высокая совместная экспрессия этих маркеров в опухолевом микроокружении подчеркивает их потенциальное значение в патогенезе КРР и делает их перспективными терапевтическими мишенями для ингибирования ангиогенеза и метастазирования.

1. Saif M.W., Chu E. Biology of Colorectal Cancer // Cancer J. 2010; 16 (3): 196–201. PMID: 20526096. doi: 10.1097/PPO.0b013e3181e076af.
2. Gordon-Weeks A., Lim S.Y., Yuzhalin A. *et al.* Tumour-Derived Laminin $\alpha 5$ (*LAMA5*) Promotes Colorectal Liver Metastasis Growth, Branching Angiogenesis and Notch Pathway Inhibition // Cancers (Basel). 2019; 11 (2): 225. doi: 10.3390/cancers11020225. PMID: 30744187.
3. Мальцева Д. В., Родин С. А. Ламинины и метастазирование опухолей // Мол. биол. 2018; 52 (3): 411–434.
4. Zhang Y., Liu Y., Wang L. *et al.* CD146 Promotes Tumor Angiogenesis by Enhancing VEGFR-2 Signaling // Nat. Commun. 2021; 12: 4567. doi: 10.1038/s41467-021-24. PMID: 34326345.
5. Gene Expression Omnibus (GEO). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>
6. The Cancer Genome Atlas (TCGA). Available from: <https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga>.

Создание модели гиперС-пептидемии на *Drosophila melanogaster*

Латыпова Е. М.¹, Сайранова А. Р.^{1,2}, Саранцева С. В.¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), Санкт-Петербурга, Россия

nastya_sayranova@mail.ru

В настоящее время представление о С-пептиде как о побочном продукте синтеза инсулина, лишенном собственной физиологической роли, кардинально пересмотрено. Многочисленные исследования подтверждают биологическую активность С-пептида и его роль в развитии поздних осложнений сахарного диабета (ретинопатии, нефропатии, нейропатии) [1]. В то время как последствия дефицита С-пептида изучены достаточно подробно, влияние его хронически повышенного уровня, сопутствующего гиперинсулинемии, остается исследованным в меньшей степени [2].

Данная работа направлена на изучение вклада повышенной секреции С-пептида и инсулина в формирование ключевых проявлений метаболического синдрома.

Для решения поставленной задачи были получены генетические конструкции, содержащие последовательность С-пептида, инсулина и проинсулина человека под контролем конститутивного промотора P(actin 5C). Процедура микроинъекций эмбрионов линии № 24482 была выполнена в Институте биологии гена РАН (Москва). Интеграция трансгенов в сайт M{3xP3-RFPattP} подтверждена методами инвертированной ПЦР и секвенированием по Сэнгеру.

В полученных трансгенных линиях будут оценены уровни циркулирующего инсулина и С-пептида, а также фенотипические признаки метаболического синдрома. Полученные данные позволят установить причинно-следственные связи между гиперсекрецией компонентов инсулинового каскада и развитием метаболического синдрома.

1. Luppi P., Cifarelli V., Wahren J. // *Pediatr Diabetes*. 12, 3 (2011).

2. Терехова Е. Н., Терещенко И. В. // *Ожирение и метаболизм*, 3 (2007).

**Анализ тканей глиом головного мозга пациентов *ex vivo*
с использованием макроскопического времяразрешенного
флуоресцентного имиджинга**

Сачкова Д. А.^{1,2}, Ширманова М. В.¹, Киселева Е. Б.¹, Щечкин И. Д.^{1,2},
Кухнина Л. С.¹, Бедерина Е. Л.¹, Щеславский В. И.¹, Яшин К. С.¹

¹ Приволжский исследовательский медицинский университет, Нижний Новгород, Россия

² Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

sachkova.collins@gmail.com

Ключевой проблемой в лечении глиом остается низкая эффективность терапии, которая связана со сложностью достижения радикальной резекции опухоли из-за ее инфильтративной природы, что напрямую определяет прогноз пациента [1]. Одним из перспективных решений проблемы может стать внедрение новых методов интраоперационной диагностики, таких как макроскопический флуоресцентный времяразрешенный имиджинг (макро-FLIM), оценивающий времена жизни флуоресценции эндогенных молекул ткани в реальном времени с высокой чувствительностью.

Цель работы – исследование автофлуоресцентных различий глиом и здоровых тканей, и оценка возможности выявления опухолевой инфильтрации в перитуморальном белом веществе головного мозга пациентов с помощью макро-FLIM.

Исследование включало 110 свежeweыделенных образцов тканей головного мозга пациентов с глиомами, из них 35 – опухоли (15 глиобластом, 11 астроцитом и 9 олигодендроглиом), 48 – перитуморальная зона, 15 – нормальное белое и 11 – серое вещества. Визуализировали времена жизни автофлуоресценции в канале кофактора никотинамидадениндинуклеотида (фосфата) НАД(Ф)Н на конфокальном FLIM-макросканере (Becker&Hickl, Германия) (возб. 375 нм, рег. 435–485 нм). Диагноз и тип ткани для образцов определяли гистологическим исследованием.

Макро-FLIM выявил статистически значимые отличия между опухолевыми и нормальными тканями белого и серого вещества: опухоль демонстрировала более высокие значения времени жизни флуоресценции относительно нормы. Наиболее выраженная разница показана для глиобластомы, чувствительность ее распознавания составила 92,3 %, указывающей на надежность метода.

Макро-FLIM также эффективно обнаруживает очаги инфильтрации в тканях, удаленных от опухоли. Сравнение FLIM-изображений с гистологией показало соответствие областей, идентифицированных как «опухоль» с

фактическим расположением инфильтративных зон, достигая 70 % точности в случаях глиобластомы.

Таким образом, макро-FLIM – многообещающий инструмент для повышения точности резекции границ глиом, что в перспективе улучшит качество лечения пациентов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 23-75-10068.

1. Noh T., Mustroph M., Golby A.J. Intraoperative Imaging for High-Grade Glioma Surgery // Neurosurg. Clin. North Amer. 32, 47–54 (2021).

Растительные экстраклеточные везикулы как активный компонент средств, предназначенных для активации синтеза эластина и гиалуроновой кислоты в клетках кожи

Соломина Л. А.^{1,2}, Гараева Л. А.¹, Емельянова С. С.¹, Кванчиани В. В.¹,
Коневега А. Л.^{1,2}, Штам Т. А.¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
Санкт-Петербург, Россия

solomina_la@npi.nrcki.ru

В современной регенеративной медицине и косметологии значительное внимание уделяется экстраклеточным везикулам (ЭВ) как перспективному инструменту модуляции клеточного микроокружения и стимуляции репаративных процессов в кожных тканях [1]. Наиболее изучены ЭВ животного происхождения, которые находят применение в клинических и косметологических протоколах. Однако масштабирование их производства сопряжено с технологическими и экономическими ограничениями. В качестве альтернативного источника ЭВ исследуются растительные экстраклеточные везикулы (РЭВ). Они демонстрируют сопоставимые с животными ЭВ характеристики, при этом обладая принципиальными преимуществами: отсутствием зоонозных и человеческих патогенов, экономической эффективностью крупномасштабного производства.

Целью настоящего исследования выступает комплексная оценка ранозаживляющей активности РЭВ с использованием экспериментальных моделей *in vitro* и *in vivo*.

Оценку влияния везикулярной суспензии на время заживления и формирование рубца производили с использованием модели резаной раны на самках мышей линии Balb/c-DBA2. РЭВ, полученные из огурца, способствовали более быстрому закрытию раны, также существенному уменьшению длины шрама. На основании результатов МТТ-теста РЭВ исследуемых продуцентов повышали жизнеспособность поврежденных клеток кожи. Одновременно, по данным ОТ-ПЦР, РЭВ индуцировали экспрессию генов эластина *ELN* и гиалуронансинтаз 1-го и 2-го типов, *HAS1* и *HAS2*, отвечающих за накопление элементов внеклеточного матрикса дермы, в поврежденных дермальных фибробластах человека линии DF-2.

1. Prasai A. *et al.* Role of Exosomes in Dermal Wound Healing: A Systematic Review // J. Investig. Dermat. – 2022. – V. 142. – No. 3. – P. 662–678.e8.

Влияние стрептомицина на инициацию трансляции прокариот и роль структурных элементов мРНК

Спиридонова З. А.¹, Касацкий П. С.¹, Полесскова Е. В.^{1,2}, Коневега А. Л.^{1,2,3},
Виноградова Д. С.¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,
Санкт-Петербург, Россия

³ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва,
Россия

spiridonova_z@pni.nrcki.ru

Стрептомицин – антибиотик из группы аминогликозидов, ингибирующий трансляцию в прокариотах. Известно, что он связывается с малой 30S-субъединицей рибосомы и вызывает ошибки декодирования на стадии элонгации, что в итоге приводит к подавлению синтеза белка [1]. Однако его влияние на стадию инициации трансляции малоизучено. Современные данные указывают на то, что стрептомицин может влиять на взаимодействие инициаторных факторов (IF1, IF3) с 30S-субъединицей, изменяя конформацию декодирующего центра рибосомы и влияя на сборку 30S инициаторного комплекса (IC) [2, 3].

Целью настоящей работы являлось изучение влияния стрептомицина на аффинность лигандов при формировании 30S-IC, а также на кинетику инициации трансляции в прокариотической системе *in vitro* [4] в зависимости от вариативности структурных элементов матричной РНК (мРНК). В качестве изменяемых параметров мРНК рассматривались изменения в длине и удаленности последовательности Шайна – Дальгарно (SD) от инициаторного кодона, локализация и свободная энергия сворачивания вторичных структур, использование UUG/UUC-кодона в качестве стартового.

Методами флуоресцентной спектроскопии (микротермофорез, спектрометрия остановленного потока) анализировали влияние стрептомицина на аффинность связывания мРНК с 30S-субъединицей в условиях формирования 30S-IC и на кинетику образования 30S-IC и 70S-IC в зависимости от присутствия инициаторных факторов.

Было показано, что влияние стрептомицина на образование 30S IC зависит от свободной энергии формирования вторичных структур в 5'-нетранслируемой области мРНК, от длины последовательности Шайна – Дальгарно и ее удаленности от стартового кодона. Стрептомицин стимулирует формирование 30S-IC для мРНК, содержащих канонический стартовый кодон AUG или неродственный кодон UUG. На стадии формирования 70S-IC антибиотик оказывает стимулирующее действие на ассоциацию субъединиц

рибосомы независимо от структуры мРНК, в отличие от аккомодации инициаторной тРНК, эффективность которой зависит от свойств мРНК.

Таким образом, было показано, что стрептомицин оказывает влияние на образование 30S-IC и 70S-IC в зависимости от функциональных элементов мРНК и присутствия IF1 и IF3.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 23-74-10088.

1. Demirci H. *et al.* // Nat. Commun. 2013. V. 4. P. 1355.
2. Milon P. *et al.* // Mol. Cell. 2008. V. 30. P. 712–720.
3. Chulluncuy R. *et al.* // Antibiotics. 2016. V. 5. No. 4. P. 38.
4. Vinogradova D.S. *et al.* // PLOS Biology. 2020. V. 18. No. 1. P. e3000593.

Влияние связывания (p)ppGpp на конформационную стабильность бифункционального фермента RelSeq₃₈₅

Спиридонова З. А.¹, Касацкий П. С.¹, Толстыко Е. А.¹, Полесскова Е. В.^{1, 2},
Конева А. Л.^{1, 2, 3}, Виноградова Д. С.¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

³ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

spiridonova_z@pnci.nrcki.ru

Реакция бактерий на стресс, называемая «строгим ответом», опосредуется накоплением в клетке малых сигнальных молекул алармонов (p)ppGpp, уровень которых регулируется ферментами семейства RSH (RelA/SpoT Homologue) [1, 2]. Бифункциональный фермент RelSeq может как синтезировать (p)ppGpp из ATP и GDP/GTP, так и гидролизовать алармоны до GDP/GTP и пирофосфата [3].

Исследование RelSeq в условиях *in vitro* осложняется его плохой растворимостью. Удаление С-концевого домена приводит к улучшению растворимости, повышению эффективности синтеза алармонов в 12 раз и снижению гидролизной активности в 150 раз [4]. В представленной работе было изучено влияние связывания нуклеотидов на конформационную стабильность N-концевого домена RelSeq (RelSeq₃₈₅) методами нанодифференциальной сканирующей флуориметрии и микротермофореза.

Было установлено, что связывание алармонов ppGpp и pppGpp с ферментом вызывает значительное повышение его термостабильности: значение температуры плавления (Тпл) увеличилось на 6,5 °С. В отличие от этого связывание ATP не влияет на конформационную стабильность белка в условиях его температурного нагрева, а формирование комплексов с GDP или GTP приводит к умеренному повышению значения Тпл. Повышение концентрации ионов Mg²⁺, необходимых для синтеза алармонов, приводит к снижению стабильности (p)ppGpp-связанной формы фермента, в то время как на стабильность комплексов с GDP или GTP ионы магния не оказывают значительного влияния. Ионы марганца играют важную роль в поддержании гидролизной активности фермента RelSeq₃₈₅. Стабильность комплекса RelSeq₃₈₅-(p)ppGpp зависит от концентрации ионов Mn²⁺, где при значении 10 мМ достигает своего максимума. Анализ аффинности нуклеотидов к RelSeq₃₈₅ показал, что сродство pppGpp к белку в 2 раза выше по сравнению с ppGpp.

Полученные данные показывают, что связывание алармонов ppGpp/pppGpp с RelSeq₃₈₅ стимулирует повышение конформационной

стабильности фермента, что может использоваться бактериями в качестве способа регуляции поддержания оптимального уровня алармонов в среде.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 23-74-10088). Данные опубликованы в статье [5].

1. Cashel *et al.* *Escherichia coli* and *Salmonella*: Cellular and Molecular Biology. 1996. V. 2. P. 1458–1496.
2. Haurlyuk *et al.* // *Nat. Rev. Microbiol.* 2015. V. 13. P. 298–309.
3. Hogg *et al.* // *Cell.* 2004. V. 117. №1. P. 57–68.
4. Mechold *et al.* // 2002. V. 184. No. 11. P. 2878–2888.
5. Vinogradova *et al.* // *Nanobiotechn. Rep.* 2025. V. 20. No. 6. P. 903–915.

**Таксономическое разнообразие кишечного микробиома
Drosophila melanogaster со сниженной экспрессией гена *sws*
в субпериневральных глиальных клетках**

Слепнёва Е. Э.¹, Стулов А. А.^{1,2}, Комиссаров А. Е.¹, Саранцева С. В.¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Санкт-Петербургский государственный технологический институт
(технический университет), Санкт-Петербург, Россия

ant.stulov@gmail.com

Отечественные и зарубежные исследования указывают на вовлеченность кишечной микробиоты в процессы, регулирующие функционирование нервной системы. Так, имеются данные, демонстрирующие, что микробные факторы воздействуют на нервную деятельность носителя через нейронные, метаболические, эндокринные и иммунные пути. Совокупность этих взаимодействий получила устоявшееся название «ось кишечник – мозг» [1, 2]. Кроме того, показано, что дисбиоз микробиоты сопутствует развитию нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера и Паркинсона [1].

Целью данного исследования являлся анализ таксономического состава микробиоты кишечника линии дрозофил с подавленной, при помощи РНК-интерференции и глиоспецифических драйверов, экспрессией гена *sws* в клетках субпериневральной глии (*NPS-GAL4; UAS-sws-RNAi*) [4].

Анализ таксономического разнообразия проводился на основе данных, полученных при секвенировании участков V3-V4 16S рРНК технологией нанопорового секвенирования с использованием прибора Minlon и ячейки 9-й серии. Таксономическое профилирование выполнено с помощью Kraken2 и базы данных NCBI «16S_ribosomal_RNA». В качестве контроля использовались образцы, полученные от линии *Canton-S*. В микробиоте *Canton-S* в составе числа доминирующих таксонов были идентифицированы представители рода *Providencia*, не вошедшие в число доминирующих таксонов линии *NPS-GAL4;UAS-sws-RNAi*. При этом у дрозофил линии *NPS-GAL4;UAS-sws-RNAi* одним из преобладающих родов являются *Erwinia*, не выявляемые в столь значительных количествах в микробиоме особей линии *Canton-S* [5, 6].

1. Сиденкова А. П., Мякотных В. С. и др. // Психиатрия 20, 3, 98 (2022).
2. Ivanova E.A., Ryabova E.V. *et al.* // Int. J. Mol. Sci. 26, 22, 11085 (2025).
3. Мелентьев П. А., Рябова Е. В. и др. // Генетика 57, 10, 1103 (2021).
4. Ryabova E.V., Melentev P.A. *et al.* // Cells 10, 3, 529 (2021).

5. Basset A., Khush R.S. *et al.* // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 97, 7, 3376 (2000).
6. Galac M.R., Lazzaro B.P. // Microbes Infect. 13, 7, 673 (2011).

Оценка ассоциации генетических вариантов генов *DRD2*, *GBA1* с риском развития шизофрении.

Сырьева О. В.¹, Лавринова А. О.^{1,2}, Демидова Е. А.¹, Пидюрчина В. Н.¹,
Крапова А. К.¹, Усенко Т. С.^{1,2}, Пчелина С. Н.^{1,2}, Емельянов А. К.^{1,2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

olesya.syreva@mail.ru

Шизофрения представляет собой тяжелое психическое заболевание, одним из ключевых элементов патогенеза которого является нарушение работы дофаминовых рецепторов 2-го типа (*DRD2*) [1]. Показано, что однонуклеотидные варианты (ОНВ) в гене *DRD2* ассоциированы с риском развития данного заболевания [2, 3]. Обнаружено, что при шизофрении наблюдается нарушение метаболизма липидов и работы лизосом [4]. Предполагается связь шизофрении с болезнью Паркинсона (БП) [5]. Фактором высокого риска развития БП являются патогенные мутации в гене *GBA1*, способствующие дисфункции лизосомного фермента – глюкоцереброзидазы [6].

Целью настоящего исследования являлась оценка ассоциации мутаций гена *GBA1* (N370S, L444P, E326K), а также ОНВ rs6275 гена *DRD2* с риском развития шизофрении среди жителей Северо-Западного региона России.

В исследование включен 161 пациент с диагнозом шизофрения (возраст $35,0 \pm 17,2$) и 434 здоровых индивидуума контрольной группы (возраст $63,0 \pm 14,6$). Скрининг генетических вариантов проводили с использованием ПЦР-рестрикционного анализа и аллельной дискриминации методом ПЦР в режиме реального времени.

В результате нами показана ассоциация аллеля rs6275*G (G/A) гена *DRD2* с риском развития заболевания (OR = 1,56 [95 % CI: 1,12–2,19], $p = 0,0088$). Среди пациентов с шизофренией обнаружены 1 носитель мутации L444P гена *GBA1* (1/157; 0,6 %) и 4 носителя мутации E326K (4/161; 2,5 %). В контрольной группе был выявлен 1 носитель L444P (1/400; 0,2 %), 13 носителей E326K (13/434; 2,9 %). Суммарная частота мутаций в гене *GBA1* (L444P и E326K) составила 3,1 % (5/161) в группе пациентов с шизофренией и 3,2 % (14/434) в контроле. Сравнительный анализ частот исследуемых генетических вариантов между группами не выявил статистически значимых различий.

Таким образом, было показано, что носительство аллеля rs6275*G гена *DRD2* повышает риск развития шизофрении среди жителей Северо-Западного региона России в 1,6 раза. Мутации (N370S, L444P, E326K) в гене *GBA1* не ассоциированы с риском развития данного заболевания.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500037-7-1.6.8; 1.6.1; 1.6.2; 1.6.3 «Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза социально значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения»).

Выражаем благодарность Национальному медицинскому исследовательскому центру психиатрии и неврологии им. В. М. Бехтерева (А. О. Мошковой, Н. М. Залуцкой, Н. Г. Незнанову), Первому Санкт-петербургскому государственному медицинскому университету им. И. П. Павлова (О. А. Беркович), участвовавшим в наборе группы пациентов с шизофренией и контроля.

1. Oda Y., Kanahara N., Iyo M. // *Int. J. Mol. Sci.* 16, 30144 (2015).
2. Zhang Y., Bertolino A., Fazio L. *et al.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104, 20552 (2007).
3. Gupta M., Chauhan C., Bhatnagar P. *et al.* // *Pharmacogenomics* 10, 277 (2009).
4. Копытова А. Е., Усенко Т. С., Безрукова А. И. и др. // *Генетика* 59, 670 (2023).
5. Kuusimäki T., Al-Abdulrasul H., Kurki S. *et al.* // *Mov. Disord.* 36, 1353 (2021).
6. Sidransky E. *et al.* // *N. Engl. J. Med.* 361, 1651 (2009).

Редкие варианты гена *LIPC* в развитии нарушений липидного обмена

Танаянц К. О.¹, Изюмченко А. Д.^{1,2}, Грунина М. Н.^{1,2}, Легостаева К. В.²,
Куликов А. Н.², Пчелина С. Н.^{1,2}, Мирошникова В. В.^{1,2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

tanayantsksenia@yandex.ru

Гиперлипидемия – важный фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), которые остаются главной причиной смертности в России и мире. Выявление лиц с повышенным генетическим риском является одной из наиболее эффективных стратегий в профилактике ССЗ. Ген *LIPC* кодирует печеночную липазу, фермент, играющий важную роль в ремоделировании липопротеиновых частиц и метаболизме липидов. Мутации в гене *LIPC* приводят к развитию редкой дислипидемии с аутосомно-рецессивным типом наследования – дефицит печеночной липазы. Однако было показано, что гетерозиготное носительство патогенных вариантов гена *LIPC* также ассоциировано с развитием гиперлипидемии [1].

Цель работы – оценить частоту встречаемости редких (частота *gnomAD* менее 1 %) вариантов (патогенных / вероятно патогенных, неопределенной клинической значимости) в гене *LIPC* в российской популяции, а также у пациентов с нарушениями липидного обмена.

Частота редких вариантов *LIPC*, которые встречались у жителей России, была оценена с использованием доступной базы данных RUSeq [2]. Также был проведен поиск редких вариантов *LIPC* с использованием данных таргетного секвенирования на NGS-панели «Дислипидемия и риск ССЗ» 160 пациентов с нарушениями липидного обмена [3].

Согласно базе данных RUSeq патогенные и вероятно патогенные варианты *LIPC* встречаются в российской популяции с предположительной частотой 0,1 %; варианты с неопределенной клинической значимостью – с частотой 1,5 %, из них самый распространенный – p.Thr405Met (rs113298164; частота RUSeq 0,8 %). Анализ данных секвенирования продемонстрировал, что вариант p.Thr405Met гена *LIPC* встречается у 1,9 % пациентов с нарушениями липидного обмена. Ранее было показано, что данный вариант приводит к снижению активности фермента [4].

Таким образом, вариант p.Thr405Met гена *LIPC* представляет интерес как возможный генетический фактор развития дислипидемии. Для оценки значимости его вклада необходимы дальнейшие исследования.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500037-7-1.6.8; 1.6.1; 1.6.2; 1.6.3 «Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза социально значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения»).

1. Jacob E.O., Wang J., McIntyre A.D. *et al.* Phenotype in Individuals with Heterozygous Rare Variants in LIPC Encoding Hepatic Lipase // *Int. J. Mol. Sci.* – 2024. – V. 25, No. 21. – P. 11445. – doi: 10.3390/ijms252111445.
2. Barbitoff Y.A, Khmelkova D.N., Pomerantseva E.A. *et al.* Expanding the Russian Allele Frequency Reference *via* Cross-Laboratory Data Integration: Insights from 7452 Exome Samples // *Nat. Sci. Rev.* – 2024. – V. 11, No. 10. – P. nwaе326. – doi: 10.1093/nsr/nwaе326.
3. Мирошникова В. В., Изюмченко А. Д., Музалевская М. В. и др. Генетическая архитектура семейной гиперхолестеринемии на примере когорты жителей Санкт-Петербурга» // *Росс. кардиол. журн.* – 2025. – № 10. – С. 6432. – doi: 10.15829/1560-4071-2025-6432.
4. Pirim D., Bunker C.H., Hokanson J.E. *et al.* Hepatic Lipase (LIPC) Sequencing in Individuals with Extremely High and Low High-Density Lipoprotein Cholesterol Levels // *PLoS One.* – 2020. – V. 15. – No. 12. – P. e0243919. – doi: 10.1371/journal.pone.0243919.

Поиск каналов в ядре клеток HeLa с использованием красителя Hoechst-33342 методами конфокальной микроскопии

Титов А. И.¹, Федорова Н. Д.¹, Швецов А. В.^{1,2,3}, Варфоломеева Е. Ю.¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

³ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербурге, Россия

titov_ai@npi.nrcki.ru

Изучение структурной организации хроматина позволяет лучше понимать процессы функционирования живой клетки. В данной работе рассматривается вопрос укладки хроматина и наличия в нтм транспортных каналов. Их существование предполагалось с 90-х годов 20 века [1].

В работе [2] была предложена бифрактальная модель структуры укладки хроматина, подразумевающая наличие пустот («транспортных каналов»), где может быть локализован активный хроматин, что способствует транскрипционным процессам в ядре.

Для проверки этой модели был проведен эксперимент с помощью конфокального микроскопа TCS SP5 SMD FLCS (Leica, Germany) на клетках линии HeLa и ДНК-связывающегося красителя Hoechst-33342. Было проведено детектирование проникновения красителя в клетку с течением времени путем оценки интенсивности свечения связанных молекул. Оптические методы не позволяют получить разрешение меньше чем ~ 200 нм, а предполагаемая толщина каналов не превышает 100 нм. В связи с этим прямая визуализация каналов без использования дополнительных средств невозможна, поэтому мы используем флуоресценцию красителя, размер которого не превышает 2 нм, что должно способствовать беспрепятственному перемещению по предполагаемым каналам.

Мы установили, что в небольших количествах краситель может беспрепятственно достичь условно любой области без насыщения сайтов связывания по пути. В ходе постепенного связывания с ДНК с течением времени вырисовываются структурированные пути «свечения», от которых происходит распространение флуоресценции на весь объем ядра.

Таким образом мы косвенно подтверждаем гипотезу о наличии транспортных каналов в структуре укладки хроматина внутри ядра на примере клеток HeLa.

Работа была выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500033-1-1.6.7; 1.6.4; 1.6.8 «Функциональная и структурная организация сложных, мультикомпонентных биологических систем и их динамика»).

1. Razin S.V., Gromova I.I. The Channels Model of Nuclear Matrix Structure // BioEssays. 1995. V. 17, No. 5, P. 443–450.
2. Iashina E.G., Varfolomeeva E.Yu. *et al.* Spatial Model of the Organization of Chromatin in the Nucleus of a Biological Cell According to Small-Angle Scattering Data // JETP Lett. 2023, V. 118, No. 10, P. 779–784.

Контекст-специфичное действие антибиотика терморубина

Толичева О. А.¹, Грачев А. А.¹, Полесскова Е. В.^{1, 2}, Коневега А. Л.^{1, 2, 3}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

³ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

Бактериальный синтез белка, или трансляция – сложноорганизованный процесс, являющийся мишенью для многих терапевтически значимых антибиотиков [1]. Одним из механизмов ингибирования трансляции антибиотиками является нарушение взаимодействия между функциональными сайтами рибосомы, центрального участника трансляции и ее лигандами. Данная работа посвящена изучению антибиотика терморубина, влияющего на взаимодействие тРНК с А-сайтом рибосомного комплекса.

По данным криоэлектронной микроскопии терморубин связывается в межсубъединичном пространстве рибосомы в непосредственной близости от декодирующего центра и разрушает водородную связь между нуклеотидом A1913 в 23S рРНК и 2'-ОН-группой 37-го нуклеотида А-сайтовой тРНК [2]. В биохимических экспериментах наблюдается дестабилизация А-сайтовой пептидил-тРНК в присутствии антибиотика, что согласуется с результатами структурных исследований. Однако анализ трансляции коротких пептидов в присутствии терморубина показывает, что степень выраженности действия этого антибиотика зависит от того, какая тРНК доставляется в А-сайт. Распределение пептидов, полученных с кодирующей последовательностью Met-Phe₆ матричной РНК, существенно различается при использовании Phe-тРНК^{Phe} разного происхождения. Значит, терморубин демонстрирует контекстную специфичность не к типу аминокислоты или последовательности нуклеотидов в мРНК, а к телу самой тРНК. Связь между характеристиками тРНК и влиянием терморубина на их взаимодействие с рибосомой требует дальнейшего исследования.

1. Arenz S., Wilson D.N. Bacterial Protein Synthesis as a Target for Antibiotic Inhibition // Cold Spring Harb. Persp. Med. – 2016. – V. 6. – No. 9. – P. a025361.
2. Paranjpe M.N. *et al.* Insights into the Molecular Mechanism of Translation Inhibition by the Ribosome-Targeting Antibiotic Thermorubin // Nucl. Acids Res. – 2023. – V. 51. – No. 1. – P. 449–462.

Биоинформатический анализ общих генетических механизмов при потере слуха и заболеваниях щитовидной железы

Томозова М. С.

Москва, Россия

m.tomozova86@mail.ru

Потеря слуха и заболевания щитовидной железы, как правило, рассматриваются как отдельные клинические состояния, однако данные синдромных и эпидемиологических исследований указывают на возможность существования общих биологических механизмов. При этом роль общих генетических и функциональных путей, связанных с указанными состояниями за пределами известных синдромов, остается недостаточно ясной.

В исследовании был проведен биоинформатический анализ с использованием открытых данных платформы Open Targets [1]. Были проанализированы наборы генов, связанные с потерей слуха и заболеваниями щитовидной железы (за исключением онкологических форм). Статистическая значимость перекрытия между этими наборами оценивалась с использованием гипергеометрического теста и пермутационного анализа. Для выявления общих биологических механизмов применялись методы совместного ранжирования генов и анализа функционального обогащения.

Совместное ранжирование выявляет ген синдрома Пендреда *SLC26A4*, а также дополнительные гены, преимущественно связанные с ионным транспортом, регуляцией мембранных процессов, эпителиальной организацией и клеточными стрессовыми ответами. Анализ функционального обогащения указывает на значимую представленность генов, участвующих в процессах ионного гомеостаза и слухового восприятия.

Полученные данные указывают на наличие общих функционально-генетических механизмов, связывающих потерю слуха и заболевания щитовидной железы, выходящих за рамки ранее описанных синдромных форм.

1. Ghossaini M. *et al.* // Nucl. Acids Res. 49, D1311–D1320 (2021).

Структурные исследования механизма созревания рибосом бактерии *Staphylococcus aureus*

Усачев К. С.^{1,2}, Бикмуллин А. Г.¹, Биктимиров А. Д.^{1,2}, Клочкова Э. А.¹,
Гараева Н. С.^{1,2}, Гималетдинова А. Э.^{1,2}, Глазырин М. С.^{1,2}, Исламов Д. Р.^{1,2},
Нуруллина Л. И.^{1,2}, Рябов С. А.^{1,2}, Юсупов М. М.^{1,3}

¹ Казанский научный центр РАН, Казань, Россия

² Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

³ Институт генетики, молекулярной и клеточной биологии, Страсбург, Франция

k.usachev@knc.ru

Одним из перспективных подходов к направленной регуляции трансляции патогенов является воздействие на белковые факторы, контролирующие работу рибосом. Это могут быть факторы, влияющие на созревание или сборку рибосом, либо факторы гибернации, обеспечивающие выживание в стрессовых условиях [1]. Биогенез рибосом представляет собой жестко регулируемый многоступенчатый процесс с участием белковых факторов сборки. Для определения структурных особенностей и механизмов действия факторов RbfA, RsfS, RimM, RimP, Era, EttA и YsxC из *Staphylococcus aureus* был использован комплексный подход структурной биологии с применением методов РСА, МУРР, ЯМР, ЭПР и криоЭМ [2–4].

На основе информации о трехмерной структуре белков и их комплексов с рибосомой был показан механизм связывания и выявлены ключевые аминокислотные остатки, ответственные за взаимодействие. В результате были получены различные стадии созревания рибосомы *S. aureus* и выявлены различия в механизмах действия исследуемых белковых факторов, что в перспективе даст возможность разработки новых селективных антистафилококковых ингибиторов трансляции.

1. Усачев К. С., Юсупов М. М., Валидов Ш. З. // Биохимия. 85, 1690 (2020).
2. Khusainov I., Fatkhullin B., Pellegrino S. *et al.* // Nat. Comm. 11, 1656 (2020).
3. Bikmullin A.G., Fatkhullin B., Stetsenko A. *et al.* // Int. J. Mol. Sci. 24, 2218 (2023).
4. Garaeva N., Fatkhullin B., Murzakhanov F. *et al.* // Structure. 32, 74 (2024).

Анализ транскрипционной активности мобильных элементов в *Nicotiana benthamiana* при вирусной инфекции

Ухолкина Е. Д.¹, Болотина А. А.², Меркулов П. Ю.^{2, 3}, Киров И. В.^{2, 3}

¹ Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики», Москва, Россия

² Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия

³ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, Росси

lizauholkina@gmail.com

Мобильные элементы (МЭ) составляют значительную часть геномов растений и участвуют в их структурной организации, регуляции экспрессии генов и формировании новых признаков. В норме активность МЭ подавляется эпигенетическими механизмами, включая РНК-интерференцию и ДНК-метилирование, однако факторы, запускающие их активацию, изучены недостаточно. Одним из таких факторов может быть вирусная инфекция. Ранее было показано, что инфицирование *Arabidopsis thaliana* вирусом *Tobacco rattle virus* (TRV) сопровождается снижением метилирования отдельных МЭ и ростом их транскрипционной активности [1].

Nicotiana benthamiana широко используется как модельный объект для изучения вирусных инфекций и механизмов РНК-сайленсинга, однако ее мобилом остается слабо охарактеризованным. Целью данной работы был анализ изменений транскрипционной активности МЭ у *N. benthamiana* при заражении вирусами *Potato virus X* (PVX), TRV и *Tobacco ringspot virus* (TRSV).

Инокуляцию растений *N. benthamiana* проводили методом агроинфильтрации суспензиями *Agrobacterium tumefaciens*, несущими конструкции на основе последовательностей вирусов PVX, TRV и TRSV, а также добавляли отдельные культуры, экспрессирующие вирусные супрессоры RNA-сайленсинга (VSR). На 14-й день после заражения из системных листьев выделяли тотальную РНК, синтезировали кДНК и подтверждали наличие вирусов методом ПЦР. Для PVX и TRV вирусная РНК обнаруживалась как в присутствии, так и в отсутствии супрессоров. В случае TRSV репликация вируса была слабой и усиливалась при экспрессии VSR.

Анализ транскриптов показал достоверную активацию мобильных элементов при заражении PVX и TRV. Наиболее выраженный эффект наблюдался при инфицировании PVX, сопровождавшемся активацией 44 мобильных элементов. TRV вызывал активацию 5 элементов, тогда как при заражении TRSV значимых изменений экспрессии МЭ не выявлено.

Полученные данные демонстрируют вирус-специфичные различия в регуляции мобилома *N. benthamiana* и подчеркивают влияние вирусных инфекций на эпигенетический контроль мобильных элементов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 22-64-00076.

1. Diezma-Navas L., De la Iglesia F., Martínez C. *et al.* // Mol. Plant Pathol. 20, 1439 (2019).

Анализ кишечной микробиоты бизонов из питомника «Усть-Буотама», республика Саха

*Федорина А. Д.¹, Ерофеева Т. В.¹, Золотиков У. Е.¹, Буракова О. С.^{1,2},
Тоцаков С. В.¹*

¹ *Курчатовский геномный центр Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Москва, Россия*

² *Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия*

mi.lisena@yandex.ru

Кишечная микробиота играет фундаментальную роль в поддержании гомеостаза, пищеварения, иммунитета и общей жизнеспособности млекопитающих [1]. Для популяций диких копытных, содержащихся в условиях питомников (полувольное содержание), изучение микробного сообщества кишечника является важным инструментом для оценки адаптивного потенциала, здоровья и эффективности программ реинтродукции [2]. В Республике Саха (Якутия) лесной подвид бизона является объектом масштабной программы восстановления. Питомник «Усть-Буотама» служит ключевым центром формирования маточного поголовья для расселения [3]. Однако комплексный анализ кишечной микробиоты бизонов данного питомника до сих пор не проводился. Целью данного исследования являлась характеристика состава и структуры кишечной микробиоты бизонов питомника «Усть-Буотама» с использованием метода высокопроизводительного секвенирования последовательностей гипервариабельных участков гена 16S рПНК [4].

Методика работы заключалась в отборе фекального материала бизонов с территории питомника в количестве 6 образцов, которые фиксировали стерильным консервирующим буферным раствором (150 ммоль/л NaCl, 100 ммоль/л EDTA, 100 ммоль/л Tris-HCl (pH = 8.0)). Хранение проб проводили при температуре +4 °С до конца экспедиции и транспортировки в лабораторию. Лабораторная пробоподготовка включала экстракцию тотальной ДНК из образцов кала бизонов набором Qiagen QIAamp PowerFecal Pro DNA Kit и подготовку библиотек ампликонов региона V4 гена 16S рПНК, заключающуюся в амплификации V4-участка гена 16S рПНК и последующем присоединении индексных адаптеров для мультиплексирования образцов при параллельном секвенировании на платформе Illumina MiSeq.

Биоинформатическая обработка данных секвенирования позволила проанализировать ключевые экологические показатели микробного сообщества: альфа-разнообразие для оценки его видового богатства и равномерности, бета-разнообразие для сравнения состава микробиоты между разными группами животных, а также выявить дифференциально представленные таксоны

микроорганизмов. Полученные результаты описывают базовую структуру и таксономический состав кишечной микробиоты лесных бизонов питомника «Усть-Буотама».

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

1. Adak A., Khan M.R. An Insight into Gut Microbiota and Its Functionalities. Cellular and Molecular Life Sciences // CMLS. 2019; 76 (3): 473–493. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2943-4>.
2. Bergmann G.T., Craine J.M. *et al.* Seasonal Shifts in Diet and Gut Microbiota of the American Bison (Bison Bison) // PloS one. 2015. 10 (11): e0142409. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142409>.
3. <https://lena-pillars.ru/keep/rare-and-endangered-species/restoration-and-reintroduction-of-rare-species/>
4. Yang B., Wang Y., Qian P.Y. Sensitivity and Correlation of Hypervariable Regions in 16S rRNA Genes in Phylogenetic Analysis // BMC Bioinformatics. 2016; 17: 135. doi: 10.1186/s12859-016-0992-y. PMID: 27000765; PMCID: PMC4802574.

Молекулярная динамика апоформы вирусного шаперонина AR9

Федоров Н. В.¹, Лашков А. А.², Курочкина Л. П.³, Самыгина В. Р.¹

¹ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

² Институт биоорганической химии им. акад. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

³ Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Nikita.ok20@yandex.ru

Шаперонины – это АТФ-зависимые молекулярные шапероны, обеспечивающие корректное формирование третичной и четвертичной структуры белков. Ранее их подразделяли на две группы. Шаперонины I группы присутствуют у прокариот, а также в хлоропластах и митохондриях; они образуют гептамерные кольца и функционируют совместно с кошаперонинами. Шаперонины II группы характерны для эукариот и не требуют кошаперонинов для своего функционирования, поскольку «крышка» формируется α -спиралями их апикальных доменов. Недавние исследования выявили существование шаперонинов у вирусов бактерий (бактериофагов). Фаговые шаперонины функционируют без кошаперонинов, не имеют встроенной «крышки» и обладают рядом характерных особенностей, отличающих их от шаперонинов обеих групп, что делает особенно важным изучение их структурных состояний на различных стадиях АТФазного цикла.

В данной работе исследовался шаперонин бактериофага AR9 *Bacillus subtilis*, кодируемый геном 228. Рекомбинантный шаперонин состоит из семи субъединиц gp228 и в апоформе образует гептамерное кольцо с симметрией C7 [1]. Целью исследования было изучение подвижности субъединиц и характера межсубъединичных взаимодействий в кольце шаперонина методом молекулярной динамики.

Молекулярная динамика отдельной субъединицы показала, что наибольшую подвижность, помимо концевых участков, демонстрируют два петельных региона: Lys449–Asp462 (петля I) и Leu32–Gly55 (петля II). В составе олигомера эти петли стабилизируются за счет контактов с соседними субъединицами и характеризуются существенно меньшей подвижностью.

В кольцевой структуре субъединица В проявляла повышенную подвижность в области апикального домена, что согласуется с экспериментальными данными криоЭМ. Соседние с ней субъединицы (А и С) также демонстрировали повышенную подвижность апикальных доменов по сравнению с субъединицами D–G.

Неожиданным результатом стало обнаружение высокоподвижных петельных регионов в экваториальных доменах пары субъединиц F и G, не смежных с наиболее подвижной субъединицей (петля III, Asp500–Ser524). В то же время в остальных субъединицах подобного не наблюдается.

Работа проведена с использованием оборудования центра коллективного пользования «Комплекс моделирования и обработки данных исследовательских установок мегакласса НИЦ «Курчатовский институт», <http://ckp.nrcki.ru/>.

Работа выполнена в рамках госзадания НИЦ «Курчатовский институт».

1. Sokolova O.S. *et al.* // Biomedicines, 10, 2347 (2022). doi: 10.3390/biomedicines10102347.

Структура укладки хроматина в ядрах клеток иммунной системы методом малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР)

Федорова Н. Д.¹, Ковалёв Р. А.¹, Пантина Р. А.¹, Горшкова Ю. Е.²,
Григорьев С. В.¹, Варфоломеева Е. Ю.¹, Яшина Е. Г.^{1, 3}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, Россия

³ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

fedorova_nd@npi.nrcki.ru

Структура укладки хроматина в ядре живой клетки напрямую связана с осуществляемыми этой клеткой функциями. Наиболее популярной моделью для описания крупномасштабной упаковки ДНК является модель фрактальной глобулы, предложенная Гроссбергом в конце XX века. Согласно этой модели нить ДНК полностью заполняет трехмерное пространство без самопересечений, наподобие кривой Гильберта, а ее размерность $DF = 3$ [1]. Эксперименты по МУРН, ультраМУРН и спин-эхо МУРН на ядрах, полученных из разных типов клеток [2–5], показали, что наднуклеосомная организация хроматина представляет собой двухуровневую фрактальную структуру. В качестве обобщения всех данных МУР, нами была предложена пространственная модель организации хроматина [6].

Исследования структуры хроматина в ядре лимфоцита крысы методами малоуглового рассеяния нейтронов (МУРН) и спин-эхо МУРН в [5, 7] показали структурное отличие укладки хроматина в ядрах лимфоцитов крысы по сравнению с ядрами клеток линии HeLa на масштабах менее 200 нанометров, объясняющееся отсутствием в ядрах лимфоцитов крысы процессов транскрипции, связанных с делением клетки.

В данной работе мы получили данные о структуре укладки хроматина в ядрах клеток лимфоцитов крысы, мыши и клеток линии NC-37 методом малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР) на масштабах от 1 нм до 300 нм. Эксперименты проводились на установке малоуглового рассеяния рентгеновского излучения Хепох 3.0 (ОИЯИ, Дубна, Россия). Были показаны структурные отличия укладки хроматина в ядрах лимфоцитов разных биологических видов, не связанные со способностью клетки к делению, а также продемонстрированы особенности структуры хроматина, связанные с активной транскрипцией, характерной для опухолевого лимфоцита.

1. Halverson J.D. *et al.* // Rep. Prog. Phys. 77, 022601 (2014).
2. Lebedev D.V. *et al.* // FEBS Lett. 579, 1465 (2005).
3. Iashina E.G. *et al.* // J. Appl. Cryst. 52, 844 (2019).
4. Grigoriev S.V. *et al.* // Phys. Rev. E. 104, 044404 (2021).

5. Iashina E.G. *et al.* // Phys. Rev. E. 104, 064409 (2021).
6. Iashina E.G. *et al.* // Jetp. Lett. 118, 11 (2023).
7. Iashina E.G. *et al.* // J. Appl. Cryst. 56, 5 (2023).

Исследование микробного разнообразия традиционных сыров Республики Северная Осетия – Алания методом 16s/its-профилирования

Хазиева К. Р.¹, Носков С. А.¹, Тутубалина Н. А.¹, Намсараев З. Б.¹,
Туаева А. Ю.², Качмазов Г. С.³, Наумова Е. С.², Тоцаков С. В.¹

¹ Курчатовский геномный центр Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Москва, Россия

² Курчатовский комплекс генетических исследований Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Москва, Россия

³ Республиканский физико-математический лицей-интернат им. Абаева Мюрата Константиновича, Владикавказ, Россия

i@hazieva-7.ru

Микробиота традиционных сыров играет ключевую роль в процессах созревания и формировании вкусоароматических характеристик продукта. Состав микробных сообществ определяется используемым сырьем и условиями созревания, что делает актуальным их комплексный молекулярно-генетический анализ [1].

В работе исследованы микробные сообщества молока, телячьего сычуга, традиционного сыра, рассола и биопленки с поверхности рассола, отобранных в различных регионах Республики Северная Осетия – Алания. Состав прокариотической фракции оценивался методом высокопроизводительного ампликонового секвенирования V4 гипервариабельного региона гена 16S рНК, эукариотической – с использованием секвенирования ITS-ампликонов внутреннего транскрибируемого спейсера.

Анализ альфа-разнообразия по индексам Chao1 и Shannon не выявил статистически значимых различий между бактериальными сообществами исследованных групп, тогда как для дрожжевой микрофлоры были установлены достоверные различия. Анализ бета-разнообразия показал значимые различия в составе как прокариотических, так и дрожжевых сообществ.

Таксономический анализ выявил преобладание филума *Bacillota*, преимущественно представленного семейством *Lactobacillaceae* и родом *Lactococcus*. В молоке и сыре преобладали бактерии рода *Lactococcus*, играющие ключевую роль в инициации молочнокислого брожения, тогда как в сычужной закваске и рассоле – представители семейства *Lactobacillaceae*, участвующие в поддержании кислой среды и процессах созревания сыра. Эукариотическая микрофлора характеризовалась доминированием филума *Ascomycota*. В сыре, рассоле и биопленке преобладали дрожжи рода *Debaryomyces*, участвующие в формировании ароматических свойств продукта, в сычуге – *Kazachstania*, а в молоке – *Pichia*, *Kurtzmaniella* и *Trichosporon* [2].

1. Kochetkova T.V., Grabarnik I.P. *et al.* The Bacterial Microbiota of Artisanal Cheeses from the Northern Caucasus // *Fermentation*. 8, 6 (2023).
2. Wang Y., Wu J. *et al.* Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications in Food Industry // *Front. Bioeng. Biotechnol.* 9 (2021).

Биоинформатический поиск универсальных генетических биомаркеров ишемического инсульта

Хворых Г. В., Хрунин А. В., Лимборская С. А.

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

khvoryh_gv@nrcki.ru

Разработка персонализированных подходов к лечению и профилактике острых нарушений мозгового кровообращения требует поиска генетических биомаркеров, общих для крови и тканей мозга человека, а также биомаркеров, сопоставимых между человеком и животными моделями. Цель исследования – поиск кросс-видовых и кросс-тканевых генов ишемического инсульта (ИИ) путем анализа генных сетей методами машинного обучения.

Биоинформатический протокол был описан нами ранее [1]. Материалами этой работы стали генные сети *Menche et al.* 2015 ($N = 13\,460$), STRING v12.0 ($N = 16\,185$), NetHumanNet v3 ($N = 17\,849$) и HumanNet-plus ($N = 18\,659$) и списки генов ИИ, загруженные из DisGeNET ($N = 1\,159$), дифференциально экспрессирующиеся гены (ДЭГ) в крови больных ИИ относительно генов контрольной группы ($N = 387$), ДЭГ в очаге поражения мозга больных ИИ относительно здоровых тканей мозга ($N = 730$), и ортологи человека ДЭГ в мозге крысы через 24 ч после обратимой окклюзии средней мозговой артерии ($N = 890$).

В итоге определены сетеспецифичные гены-кандидаты: общие для всех ДЭГ, общие между ДЭГ крысы и человека, общие между ДЭГ мозга и кровью человека. В случае HumanNet-plus идентифицирован *S100A8*, общий для всех наборов генов ИИ. Ген кодирует кальций-связывающий белок кальпротектин, содержание которого в плазме крови коррелирует с исходами ИИ [2].

Работа выполнена в рамках государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

1. Хворых Г. В. и др. Поиск генов-кандидатов ишемического инсульта путем обучения представления генной сети // Биотехнология, 2024; 40 (7): 58.
2. Vollmuth C. *et al.* Systemic S100A8/A9 in Patients with Moderate to Severe Acute Ischemic Stroke: Exploratory Analysis of Inflammation and Functional Outcome // Brain Behav. Immun. Health. 2025; 47: 101041.

Сравнительный анализ аминокислотного состава на поверхности и в активных центрах белков человека

Хорев В. А.¹, Панасенко С. А.², Петухов М. Г.²

¹ Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

² НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

Vadimhorev8955@gmail.com

На основе сравнительного анализа кристаллографических структур 100 неродственных комплексов человеческих ферментов с лигандами исследовано распределение аминокислотного состава в их активных центрах, не связывающих лиганды в полостях и в остальных участках их поверхности. Полученные результаты указывают на физические факторы, определяющие способность активных центров белков связывать какие-либо лиганды. Предпочтительный набор аминокислот, представленных в активных центрах различных белков, определяет типы их физических взаимодействий с лигандами. Данные закономерности могут быть использованы для идентификации сайтов связывания *in silico* непосредственно на основе трехмерной структуры белка в свободном состоянии.

Интересно, что частота встречаемости остатков Gly, Tyr, Phe, His и Trp значительно выше в активном центре, чем на поверхности белков. В то же время остатки Glu, Pro и Lys встречаются реже в активном центре и чаще на поверхности.

Присутствие остатков Gly в активном центре, вероятно, связано с повышенной подвижностью структуры аминокислотного остатка, позволяющей активному центру адаптироваться к связыванию с лигандами. Ароматические остатки Tyr, Phe, His и Trp определяют повышенную гидрофобность активных центров белков [1]. Наиболее высокая корреляция составов аминокислот наблюдается между полостями не связывающими лиганды и остальной поверхностью ($R = 0,86$).

1. Villar H.O., Kauvar L.M. Amino Acid Preferences at Protein Binding Sites // FEBS Lett. 1994; 349 (1): 125–30. doi: 10.1016/0014-5793(94)00648-2. PMID: 8045288.

**Дифференциальная экспрессия циклической РНК circTMEM181
и ее регуляторная роль в клетках нейробластомы человека (SH-SY5Y)
в условиях оксидативного стресса**

*Царева Е. В., Сударкина О. Ю., Покатилов Д. Д., Бондарь Е. Г.,
Виноградина М. А., Лимборская С. А., Дергунова Л. В., Филиппенков И. Б.*

*Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва,
Россия*

ekaterina.gurianov@yandex.ru

Циклические РНК (циклоРНК) – высокостабильные длинные некодирующие РНК. Они способны участвовать в регуляции экспрессии генов путем контроля активности микроРНК, нацеленных на соответствующие мРНК. Ранее нами была показана дифференциальная экспрессия циклоРНК circTMEM181 при коронарном атеросклерозе [1]. circTMEM181 (484 н.) образуется в результате экспрессии гена трансмембранного белка человека TMEM181. В данной работе изучена дифференциальная экспрессия и возможная регуляторная роль circTMEM181 на клеточной модели оксидативного стресса (ОС) – одного из значимых этапов патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний [2].

ОС был смоделирован на клетках нейробластомы человека SH-SY5Y с помощью пероксида водорода (40 мкМ) и культивирования клеток в течение 20 мин. С помощью ОТ-ПЦР в реальном времени оценили изменение уровня circTMEM181 через 22 ч после начала ОС. Программы miRanda, RNAhybrid и TargetScan были использованы для поиска сайтов связывания микроРНК с циклоРНК и мРНК.

Нами установлено, что в клетках SH-SY5Y в условиях ОС уровень circTMEM181 повышается в 1,8 раза ($p < 0,05$). С использованием программ miRanda, RNAhybrid и TargetScan выявлены 5 микроРНК (miR-1182, miR-1226-5p, miR-1343-5p, miR-3131, miR-623), способных взаимодействовать с circTMEM181. Ранее с помощью RNA-Seq нами были обнаружены 125 дифференциально экспрессированных генов (ДЭГ) (кратность $< 1,5$; $P_{adj} < 0,05$), связанных с ОС в клетках SH-SY5Y. Здесь было показано, что circTMEM181, связывая микроРНК, может регулировать экспрессию 105 из 125 ДЭГ (CTSH, CAPN15, TLE3, IGSF9B, SYT8 и др.).

Показана дифференциальная экспрессия circTMEM181 в клетках SH-SY5Y в условиях ОС. Установлена возможная сеть циклоРНК-микроРНК-мРНК-взаимодействий, связанная с функционированием circTMEM181 в условиях ОС.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» (биоинформатика), а также при поддержке гранта РФФИ № 25-14-00047 (экспрессия генов).

1. Виноградина М. А., Носова Е. В. и др., Увеличение экспрессии циклических РНК circSPARC и circTMEM181 при коронарном атеросклерозе // Мол. генет., микробиол. и вирусол. 24–29, № 43 (1) (2025).
2. Kumar V., Bishayee K. *et al.* Oxidative Stress in Cerebrovascular Disease and Associated Diseases // Front. Endocrinol. 14 (2023).

Применение миРНК для подавления экспрессии ганкирина в сочетании со сфокусированным ультразвуком в терапии глиобластомы

Чебитко Т. В.¹, Травникова Д. Ю.^{1,2}, Абакумова Т. О.¹

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова, Москва, Россия

² Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

chebitko.t@yandex.ru

Малые интерферирующие РНК (миРНК) являются перспективным инструментом терапии опухолей, однако их применение для опухолей ЦНС ограничено гематоэнцефалическим барьером (ГЭБ). Сфокусированный ультразвук (ФУЗ) позволяет временно и локально повышать его проницаемость, обеспечивая таргетную доставку миРНК в клетки опухоли [1]. В качестве молекулярной мишени рассматривается онкопротеин ганкирин, ассоциированный с агрессивным течением глиом [2].

Клеточные линии глиомы мыши (GL261), человека (U87) и первичные клетки глиобластомы человека служили моделью глиобластомы *in vitro*; фибробласты – моделью нормальных клеток. Клетки трансфецировали миРНК в липидных наночастицах (5–10 нМ) и инкубировали 48 ч. Жизнеспособность оценивали с помощью теста Alamar Blue, уровень экспрессии ганкирина – методом ОТ-ПЦР. Модель глиобластомы *in vivo* создавалась с помощью линий GL261, GL261-GFP-Luc, стереотаксически имплантированных в мозг мышей C57BL/6. ФУЗ применялся одновременно с внутривенным введением микропузырьков, кавитирующих под действием ультразвука и раздвигающих плотные контакты эндотелия ГЭБ. Накопление миРНК в опухоли оценивали по сигналу от миРНК, меченных флуорофором.

Показано, что экспрессия ганкирина в клетках глиобластомы более чем в два раза выше, чем в фибробластах. Применение миРНК *in vitro* приводило к подавлению экспрессии ганкирина до 90 % и снижению жизнеспособности опухолевых клеток в среднем на 40 %. Применение ФУЗ *in vivo* обеспечивало преимущественное накопление миРНК в опухоли и подавление экспрессии ганкирина на 25 % по сравнению с контролем, тогда как без ФУЗ-воздействия – лишь на 3 %.

Полученные данные свидетельствуют о значимости ганкирина для поддержания жизнеспособности клеток глиом и обосновывают его выбор в качестве мишени. Использование ФУЗ в комбинации с миРНК позволяет преодолеть ограничения, которые создает ГЭБ, и рассматривается как перспективный малоинвазивный подход к терапии глиобластомы.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 22-75-10151-П.

1. Gomes M.J., Martins S., Sarmiento B. siRNA as a Tool to Improve the Treatment of Brain Diseases: Mechanism, Targets and Delivery // Ageing Res. Rev. 21, 43–54 (2015).
2. Kashyap D., Varshney N. *et al.* Gankyrin: At the Crossroads of Cancer Diagnosis, Disease Prognosis, and Development of Efficient Cancer Therapeutics // Adv. Cancer Biol. – Metastasis. Elsevier Inc. 4 (2022).

**Математическое моделирование интеграции
G_s- и G_i-опосредованных сигналов при совместной активации
меланокортиновых и опиоидных рецепторов**

Шарапов Я. А.

Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра биохимии,
Санкт-Петербург, Россия

yarostloff@yandex.ru

Опиоидная аддикция является одной из значимых медико-социальных проблем современности. Опиоидный абстинентный синдром представляет собой тяжелое физиологическое состояние, сопровождающееся нарушениями регуляции внутриклеточных сигнальных процессов. Одним из ключевых механизмов, вовлеченных в формирование клеточного ответа при действии опиоидов, является регуляция уровня циклического аденозинмонофосфата (цАМФ).

Рецепторы, сопряженные с различными типами G-белков, оказывают противоположное влияние на активность аденилатциклазы и внутриклеточную концентрацию цАМФ. В условиях совместной активации нескольких рецепторных систем итоговый клеточный ответ определяется не отдельными сигнальными путями, а их интеграцией на уровне регуляции ферментативной активности аденилатциклазы [1, 2].

Целью данной работы является разработка математической модели GPCR-сигналинга [3], позволяющей исследовать интеграцию G_s- и G_i-опосредованных сигналов и формирование дозозависимого клеточного ответа на уровне цАМФ. Предлагаемая модель рассматривается как основа для последующего планирования и интерпретации экспериментов *in vitro*.

В работе представлена механистическая модель GPCR-сигнальных каскадов, включающая связывание лиганда с рецептором, активацию G_s- и G_i-белков, интеграцию сигналов на уровне аденилатциклазы и динамику цАМФ. Модель описывается системой обыкновенных дифференциальных уравнений с кинетикой действующих масс. Анализ проводится в стационарном режиме, что позволяет количественно охарактеризовать баланс между стимулирующими и ингибирующими сигнальными входами.

Моделирование дозозависимых кривых выявило сигмоидальную зависимость уровня цАМФ от концентрации лигандов, характерную для GPCR-сигналинга. При совместной активации рецепторов наблюдается нелинейная конкуренция между G_s- и G_i-опосредованными сигналами, приводящая к формированию сложного сигнального баланса. Двумерные карты отклика

демонстрируют области доминирования отдельных путей и переходные режимы их взаимодействия.

1. Zhang M., Chen T., Lu X. *et al.* G Protein-Coupled Receptors (GPCRs): Advances in Structures, Mechanisms and Drug Discovery // *Signal Transduct. Target. Ther.* 2024. V. 9. Art. 88.
2. Navarro G., Cordoní A., Casadó-Anguera V. *et al.* Evidence for Functional Pre-Coupled Complexes of Receptor Heteromers and Adenylyl Cyclase // *Nat. Commun.* 2018. V. 9. Art. 1242.
3. Carvalho S., Pearce A., Ladds G. Novel Mathematical and Computational Models of G Protein-Coupled Receptor Signalling // *Curr. Opin. End. Metab. Res.* 2021. V. 16. p. 28–36.

Особенности и регуляция синтеза с вытеснением цепи в линкерной ДНК нуклеосомы, катализируемого ДНК-полимеразой β

Штанов Д. М.^{1,2}, Кургина Т. А.¹, Кутузов М. М.¹, Моор Н. А.¹, Лаврик О. И.¹

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

d.shtanov@g.nsu.ru

ДНК-полимераза β (Pol β) – репаративная ДНК-полимераза, катализирующая заполнение однонуклеотидных брешей и синтез ДНК с вытеснением цепи в процессе эксцизионной репарации оснований (ЭРО) [1, 2]. Активность ферментов ЭРО, в том числе Pol β , подвергается многоуровневой регуляции. Так, компактизация ДНК представляет собой один из факторов, влияющих на репарацию ДНК: доступ ферментов ЭРО к повреждениям ДНК в составе нуклеосомы затруднен, что приводит к снижению эффективности репарации и ускоренному накоплению мутаций в ДНК, входящей в состав нуклеосом [3–4]. Процесс ЭРО также регулируется поли(АДФ-рибоза) полимеразой 1 и 2 (PARP1 и 2). Эти ферменты распознают повреждения ДНК (в том числе интермедиаты ЭРО), связываются с ними и катализируют синтез поли(АДФ-рибозы) (PAR), используя в качестве субстрата NAD⁺ [5]. Авто-PAR-илирование ферментов PARP приводит к их диссоциации из комплексов с ДНК, а PAR служит сигналом для привлечения факторов ремоделирования хроматина и репарации ДНК [6, 7]. Кроме того, поли(АДФ-рибозил)ирование (PAR-илирование) гистонов в составе нуклеосомы, катализируемое PARP1 и 2 в комплексе с HPF1, релаксирует структуру нуклеосомы, облегчая репарацию ДНК [8].

Таким образом, хорошо изучены факторы, влияющие на эффективность репаративного синтеза ДНК, катализируемого Pol β на ДНК-субстратах, находящихся в составе нуклеосомы. В то же время активность Pol β на линкерной ДНК, выступающей за пределы нуклеосомы, и влияние на эту активность линкерного гистона H1 практически не рассматривались [9]. В настоящей работе мы выявили многоуровневую систему регуляции активности Pol β в линкерной ДНК вблизи нуклеосомы. При этом нуклеосома представляет собой платформу для взаимодействия участников ЭРО и факторов, регулирующих их активность (ферментов PARP1 и 2 и гистона H1).

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 25-74-10025).

1. Krokan H.E., Bjørås M. Base Excision Repair // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* – 2013. – V. 5. – No. 4. – P. a012583. doi: 10.1101/cshperspect.a012583.
2. Sattler U. *et al.* Long-Patch DNA Repair Synthesis During Base Excision Repair in Mammalian Cells // *EMBO Rep.* – 2003. – V. 4. – No. 4. – P. 363–367. doi: 10.1021/bi972999h.
3. Beard B.C., Wilson S.H., Smerdon M.J. Suppressed Catalytic Activity of Base Excision Repair Enzymes on Rotationally Positioned Uracil in Nucleosomes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2003. – V. 100. – No. 13. – P. 7465-7470. doi: 10.1073/pnas.1330328100.
4. Pich O. *et al.* Somatic and Germline Mutation Periodicity Follow the Orientation of the DNA Minor Groove Around Nucleosomes // *Cell.* – 2018. – V. 175. – No. 4. – P. 1074–1087.e18. doi: 10.1016/j.cell.2018.10.004.
5. Gibson B.A., Kraus W.L. New Insights into the Molecular and Cellular Functions of Poly (ADP-Ribose) and PARPs // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2012. – V. 13. – No. 7. – P. 411–424. doi: 10.1038/nrm3376.
6. Kutuzov M.M. *et al.* The Contribution of PARP1, PARP2 and Poly(ADP-Ribosyl)ation to Base Excision Repair in the Nucleosomal Context // *Sci. Rep.* – 2021. – V. 11. – No. 1. – P. 4849. doi: 10.1038/s41598-021-84351-1.
7. Ahel D. *et al.* Poly (ADP-Ribose)–Dependent Regulation of DNA Repair by the Chromatin Remodeling Enzyme ALC1 // *Science.* – 2009. – V. 325. – No. 5945. – P. 1240–1243. doi: 10.1126/science.1177321.
8. Kutuzov M. *et al.* HPF1 Regulates Pol β Efficiency in Nucleosomes *via* the Modulation of Total Poly (ADP-Ribose) Synthesis // *Int. J. Mol. Sci.* – 2025. – V. 26. – No. 5. – P. 1794. doi: 10.3390/ijms26051794.
9. Meas R., Smerdon M.J. Nucleosomes Determine Their Own Patch Size in Base Excision Repair // *Sci. Rep.* – 2016. – V. 6. – No. 1. – P. 27122. doi: 10.1038/srep27122.

**Защита длиной в пептид:
как румицидины ингибируют бактериальную трансляцию**

Шуленина О. В.¹, Толстыко Е. А.¹, Пичкур Е. Б.^{1,2},
Коневега А. Л.^{1,2,3}, Полесскова Е. В.^{1,3}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

³ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

tolstyko_ea@pnpi.nrcki.ru

Антибиотикорезистентность является одной из главных глобальных угроз здравоохранения, при этом большинство разрабатываемых в настоящее время антибиотиков представляет собой модификации существующих классов, что не решает проблему устойчивости в долгосрочной перспективе. Потенциальными кандидатами на роль антибактериальных препаратов нового поколения являются антимикробные пептиды (АМП), генетически кодируемые компоненты врожденного иммунитета многоклеточных организмов [1]. Пролин-богатые пептиды (ПБ-АМП) выделяются среди остальных АМП высоким профилем безопасности, демонстрируя низкий уровень бактериальной резистентности. Их основной мишенью, как и многих классических антибиотиков, является консервативный клеточный комплекс – рибосома. ПБ-АМП, связываясь в рибосомном туннеле и формируя множественные контакты с нуклеотидами 23S рРНК, нарушают процессы элонгации (класс I) или терминации (класс II) [2]. Несмотря на значительный прогресс в изучении молекулярного механизма действия ПБ-АМП, детальное понимание их антимикробной активности остается неполным.

Настоящая работа посвящена исследованию румицидинов – семейства ПБ-АМП I класса, обладающих самой длинной N-концевой областью среди известных ПБ-АМП [3, 4]. Варьирование длины и последовательности румицидинов позволило идентифицировать ключевые участки, ответственные за связывание в рибосомном туннеле и антибактериальную активность. Целью данного исследования является установление молекулярного механизма ингибирования трансляции румицидинами и их производными с использованием методов биохимии и криоэлектронной микроскопии. Полученные результаты послужат основой для направленного дизайна новых антибактериальных молекул с оптимизированной аффинностью и усиленной антимикробной активностью.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 25-14-00253).

1. Mahlapuu M., Björn C., Ekblom J. // *Crit. Rev. Biotechnol.* 40, 978–992 (2020).
2. Graf M. *et al.* // *Prod. Rep.* 34, 702–711 (2017).
3. Panteleev P.V. *et al.* // *Nat. Commun.* 15, 8925 (2024).
4. Шуленина О. В. и др. // *Биохимия.* 90 (11), 1638–1656 (2025).

Исследование биотехнологических способов снижения концентрации метанола в винодельческой продукции

Шутова Т. А., Колосова А. А., Пожидаев В. М., Камаев А. В., Федосов Д. Ю.

Национальный исследовательский институт «Курчатовский институт», Москва, Россия

t.a.shutova@mail.ru

Безопасность вина как пищевого продукта определяется его химическим составом, в том числе содержанием потенциально опасных соединений. Метанол – высокотоксичное соединение, основным источником его накопления в вине являются пектиновые соединения, содержащиеся в винограде. В процессе брожения под действием ферментов винограда и дрожжей происходит деметоксилирование пектина с образованием метанола [1].

Повышенный риск накопления метанола отмечается при использовании гибридных сортов винограда с *Vitis labrusca*, сортов, богатых пектиновыми веществами [2] и поздних сроков созревания. Технология производства также оказывает значительное влияние на содержание метанола: мацерация и брожение на мезге способствуют его увеличению [3]. Поэтому поиск условий, снижающих концентрацию метанола, будет способствовать повышению биологической ценности продукции.

В работе представлены результаты исследований влияния различных режимов мацерации на концентрацию метанола в винах. Исследованы температурные режимы 8, 18 и 26 °С и длительность мацерации от 2 до 7 сут. Показана эффективность использования штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, способствующих более низким концентрациям метанола, образующегося при производстве вин из красных сортов винограда: «каберне совиньон», «эким кара», «джеват кара», «кефессия», «красноstop золотовский», «цимлянский черный».

Результаты исследований показали влияние различных режимов мацерации на концентрацию метанола в полученных винах. Увеличение периода мацерации с 2 до 7 дней приводило к повышению содержания метанола на 25 % (с 155,3 до 206,7 мг/дм³ при 8 °С). Температурный режим мацерации 26 °С способствовал более низким показателям (95,82 мг/дм³) по отношению к (188,35 мг/дм³) при 8 °С. Использование штаммов с низкой метанообразующей способностью способствовало снижению концентрации метанола в среднем на 17 % на всех исследованных сортах винограда.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

1. OIV. Oeno 19/2004. International Organisation of Vine and Wine (OIV). – Paris, 2004.
2. Кучеренко О. В. Метанол в винах из винограда сорта «Изабелла» / О. В. Кучеренко, В. В. Билько // Винодел. и виноград. № 3. 2020.
3. Гнетько Л. В., Удычак М. М., Коблева М. М., Сиюхова Б. Б. Исследование влияния условий брожения на содержание ароматообразующих веществ в молодых красных винах // Нов. технол. № 4. 2022.
4. Шутова Т. А., Колосова А. А., Пожидаев В. М., Федосов Д. Ю. Оценка влияния дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на концентрацию метанола в винах из автохтонных сортов винограда // Биотехнология. Т. 40, № 7. 2024.

Изучение влияния апконверсионных нанофотосенсибилизаторов на биологические структуры

Фащевский А. П.¹, Лазарева Е. Н.¹, Мыльников А. М.², Наволокин Н. А.²,
Янина И. Ю.¹

¹ Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского, Саратов, Россия

² Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского, Саратов, Россия

irina-yanina@yandex.ru

Нанотехнологии на основе редкоземельных элементов с преобразованием частоты недавно продемонстрировали большие перспективы для фотодинамической терапии (ФДТ) [1, 2]. Использование апконверсионных наночастиц (АКНЧ), возбуждаемых инфракрасным источником света и имеющих излучение в видимой части спектра, в сочетании с фотосенсибилизатором, эффективно возбуждаемым на длине волны излучения частиц, расширит область применения нанофотосенсибилизатора за счет увеличения глубины проникновения света в биологические ткани. Цианиновые красители, которые также активно используются в ФДТ, эффективно связываются с белками через широкий спектр функциональных групп и, следовательно, могут быть еще более эффективной парой для АКНЧ при проведении ФДТ [3, 4].

Целью данной работы было изучение влияния нанофотосенсибилизатора на основе АКНЧ на биологические ткани, такие как опухоли и кровь.

Мы использовали синтезированные в лаборатории АКНЧ NaYF₄: Yb³⁺, Er³⁺. Наночастицы были синтезированы гидротермальным методом. Использовались АКНЧ, покрытые оболочками из человеческого сывороточного альбумина (ЧСА) и цианина 3В NHS-эфира (Су3). Концентрация АКНЧ составляла 2 мг/мл.

Работа проводилась на группе из 20 лабораторных животных. Для группы белых лабораторных крыс породы Wistar массой 300 ± 50 г, которым подкожно в область лопатки имплантировали 0,5 мл 25%-ной суспензии опухоли в растворе Хэнкса штамма альвеолярного рака печени, – РС-1. Крысы были разделены на 4 группы по 5 особей в каждой. Контрольная группа не подвергалась никакому воздействию. Экспериментальные группы: группе 1 вводили АКНЧ – ЧСА + Су3, группе 2 – опухоль облучали лазером с длиной волны 980 нм, а группе 3 вводили АКНЧ – ЧСА + Су3, а затем опухоль облучали лазером с длиной волны 980 нм. Ежедневно брали кровь для микроскопического исследования. Оптические свойства опухолевой ткани исследовали через месяц.

Было получено достоверное уменьшение размера опухоли при введении нанофотосенсибилизатора на основе АКНЧ и облучении. Анализ морфометрических параметров крови показал незначительные отклонения от

нормы. На основе анализа полученных спектров поглощения рассеяния и дисперсионной зависимости показаны изменения, связанные с наполнением кровью, и изменения степени дегидратации патологических тканей. Гистологический анализ показал отсутствие токсического воздействия на органы.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-22-00144, <https://rscf.ru/project/25-22-00144/>

1. Chen M., Zhu Q. *et al.* // Chem. Asian J. 19 (11), e202400268 (2024).
2. Yan J., Li B. *et al.* // Adv. Funct. Mater. 31 (42), 2104325 (2021).
3. Zhang Y., Lv T. *et al.* // Biomacromolecules. 18 (7), 2146–2160 (2017).
4. Usama S.M., Thavornpradit S., Burgess K. // ACS Appl. Bio Mater. 1 (4), 1195–1205 (2018).