

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
НАУЧНЫЙ СОВЕТ РАН ПО БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ
ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ СО РАН



МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
"ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ"

ПОСВЯЩЕННАЯ 90-ЛЕТИЮ АКАДЕМИКА Д. Г. КНОРРЕ
НОВОСИБИРСК, 24-28 ИЮЛЯ 2016 Г.

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ

НОВОСИБИРСК
2016

УДК 577
ББК 28.072
Х64

Химическая биология. Материалы международной конференции, посвященной 90-летию академика Д. Г. Кнорре. Новосибирск, 24-28 июля 2016 г. - Новосибирск. ЗАО . 2016. - 217 с.

ISBN 978-5-85957-131-4

В сборнике опубликованы материалы международной конференции, посвященной 90-летию академика Д. Г. Кнорре., прошедшей в г. Новосибирск, 24-28 июля 2016 г. Представлены тезисы докладов в соответствии с тематическими секциями симпозиума: "Химия нуклеиновых кислот", "Механизмы репарации ДНК и их регуляция", "Биомедицинская химия", "Белково-нуклеиновые взаимодействия в надмолекулярных комплексах", "Internation research workshop: targeting the RNA world", "Young scientist session", "Постеры".

Данное издание предназначено для ученых, специалистов, аспирантов и студентов, интересующихся современными проблемами и достижениями биоорганической химии, молекулярной биологии и биотехнологии.

ISBN 978-5-85957-131-4

© Коллектив авторов, 2016
© ИХБФМ СО РАН, 2016

Научный организационный комитет

Председатель

академик РАН Власов В. В.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

Почетный председатель

академик РАН Кнорре Д. Г.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

академик РАН Мирошников А. И.

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

академик РАН Мясоедов Н. Ф.

Институт молекулярной генетики РАН, Москва

член-корр. РАН Габибов А. Г.

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

член-корр. РАН Лаврик О. И.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

профессор д.х.н. Карпова Г. Г.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

профессор д.б.н. Зенкова М. А.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

профессор д.х.н. Федорова О. С.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

Рабочий организационный комитет

к.х.н. Пестряков П. Е., к.б.н. Миронова Н. Л., к.б.н. Лебедева Н. А.,
Косова А. А., Гладких Д. В., Зуева А. И.

ПРОГРАММА

Международной конференции «Химическая биология», посвященной 90-летию академика

Д. Г. Кнорре

Новосибирск, Академгородок, 24 - 28 июля 2016 г.

24 июля 2016

15:00 – 21:00

приезд участников конференции, регистрация в Доме ученых СО РАН

Открытие конференции в Малом зале Дома Ученых СО РАН

Председатель: академик РАН Власов Валентин Викторович,

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

16:30-16:40

Приветственное слово участникам конференции

академик РАН Власов Валентин Викторович,

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,

Новосибирск, Россия

16:40 – 17:10

«Магическая пуля» и проблемы комбинаторной селекции в биофармацевтике

член-корр. РАН Габибов Александр Габирович,

Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова

РАН, Москва, Россия

17:10-17:40

Социально значимые инфекции: исследования молекулярных механизмов и поиск новых блокаторов

член-корр. РАН Кочетков Сергей Николаевич,

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

17:40-18:10

Транскриптомный анализ регуляторного действия пептидных препаратов на клеточный метаболизм

профессор д.б.н. Лимборская Светлана Андреевна, Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

академик РАН Мясоєдов Николай Федорович, Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

18:10-18:40

Молекулярные медиаторы иммунитета, их роль в заболеваниях и новые возможности терапии

чл.-корр. РАН Недоспасов Сергей Артурович, Институт молекулярной биологии

им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

19:00-23:00

Фуршет в ресторане Дома ученых

25th July 2016

International Research Workshop Targeting the RNA World

supported by Russian Scientific Foundation grant № 14-44-00068

Conference hall, NIOCH SB RAS

9:00 – 9:15

Opening Ceremony. Introduction to the scientific project

Prof. Marina A. Zenkova, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

Dr. Elena V. Bichenkova, University of Manchester, UK

Session 1. Chemistry and design of functionality

Chairs: Dr. Vladimir A. Korshun, Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia

Dr. Dmitry A. Stetsenko, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

9:15 – 9:45

Staudinger reaction revisited: Old dog taught new tricks

Dr. Dmitry A. Stetsenko, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

9:45 – 10:15

Perylene derivatives of nucleosides: synthesis and antiviral properties

Dr. Vladimir A. Korshun, Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia

10:15 – 10:35

Convenient approach to the synthesis of oligonucleotide conjugates with biodegradable linkers

Dr. Maria I. Meschaninova, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

10:35 – 10:55

Design of multifunctional biocompatible structures based on gold nanoparticles

Dr. Inna A. Pyshnaya, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia

10:55 – 11:25

Coffee Break

11:25 – 11:55

Rational approaches to creating functional oligonucleotides

Prof. Dmitry V. Pyshnyi, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

11:55 – 12:15

Fluorescent labeling of TaqMan oligonucleotide probes via Cu(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC) “click” chemistry

Dr. Ekaterina A. Burakova, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

12:15 – 12:35

Synthesis of functionalized oligonucleotides using non-nucleosidic amidites with unified structure

Dr. Maxim S. Kuprushkin, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

12:35 – 12:55

DNA-based concatameric nanostructures formation using native and modified oligonucleotides

Dr. Georgiy Yu. Shevelev, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

12:55 – 14:00

Lunch

14:00 – 14:20

Physico-chemical properties of concatameric DNA complexes

Dr. Alexander A. Lomzov, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

14:20 – 14:40

SOI-FET sensor for specific label-free detection of short RNA markers

Dr. Elena V. Dmitrienko, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

Session 2. Structural Insights into RNA Functions

Chairs: Prof. Masayuki Fujii, Department of Environmental and Biological Chemistry, Kinki University, Iizuka, Fukuoka, Japan

Dr. Elena L. Chernolovskaya, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

14:40 – 15:10

Chemical biology for RNA manipulation: rational design of supramolecular biocatalytic systems

Dr. Elena V. Bichenkova, University of Manchester, UK

15:10 – 15:30

Artificial ribonucleases on the base of oligonucleotide-peptide conjugates: role of conformational flexibility in catalytic cleavage of RNA

Yaroslav Yu. Staroseletz, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

15:30 – 15:50

miRNases: oligonucleotide-peptide conjugates targeted to oncogenic miR-21

Dr. Olga A. Patutina, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

15:50 – 16:10

Structural investigation of activity and RNA-binding properties of artificial ribonucleases

Linda Trivoluzzi, University of Manchester, UK

16:10 – 16:30

Diagnostic and prognostic miRNA detection using 3D peptide-hydrogel oligonucleotide biosensors

Dr. Patrick King, University of Manchester, Manchester, UK.

16:30 – 17:00

Coffee break

Session 3. RNA Targeting and its Effect on Biological Functions

Chairs: Dr. Elena V. Bichenkova, University of Manchester, UK

Prof. Dmitry V. Pyshnyi, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

17:00 – 17:30

Tumor evasion of immunosurveillance: the role of the cellular reactive oxygen species (ROS)

Dr. Konstantinos Demonakos, University of Manchester, UK

17:30 – 18:00

Chemical Modification and Conjugation of siRNA

Prof. Masayuki Fujii, Kinki University, Iizuka, Fukuoka, Japan

18:00 – 18:25

ImmunoStimulating RNA: antitumor and antimetastatic effects

Dr. Elena L. Chernolovskaya, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

18:25 – 18:45

Cancer related pathways respond to ribonuclease A treatment affecting microRNA machinery of tumour cells

Dr. Nadezhda L. Mironova, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

18:45 – 19:05

Mechanisms of involvement of artificial ncRNA analogues in gene expression regulation in human cancer cells

Dr. Grigory A. Stepanov, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

25 июля

Секция 1. Химия нуклеиновых кислот

Конференционный зал ИХБФМ СО РАН

Председатель д.х.н. Сильников Владимир Николаевич, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

к.х.н. Рябинин Владимир Алексеевич, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

9:00 – 9:30

Микрочиповый синтезатор ДНК

Синяков Александр Николаевич, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

9:30 – 10:00

Модификация тушителя флуоресценции ВНQ1 при электрофоретической очистке TaqMan зондов

Рябинин Владимир Алексеевич, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

10:00 – 10:20

Design of nucleic acid-polyunsaturated fatty acid conjugates: problems and perspectives for improved chemotherapy

Попова Татьяна Витальевна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

10:20 – 10:50

Применение прекурсорного подхода для синтеза серии аналогов НАД⁺ – потенциальных ингибиторов ПАРП 1

Абрамова Татьяна Вениаминовна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

10:50 – 11:10

Дизайн и синтез потенциальных ингибиторов ПАРП-1 на основе производных пирофосфатов нуклеозидов

Шерстюк Юлия Вячеславовна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

11:10 – 11:40

Перерыв на кофе

11:40 – 12:10

Лекция спонсора

Ожидание стало реальностью: Инновационные технологии в секвенировании от Рош

Ирина Карпова, ООО "Рош Диагностика Рус", Россия

12:10 – 12:35

Особенности проникновения и внутриклеточного распределения олигонуклеотидов в составе нанокмполитов на основе наночастиц диоксида титана и полилизина

Челобанов Борис Павлович, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

12:35 – 13:00

Применение композитных титанатов, ниобатов и танталатов биологически активных полиаминов в качестве сорбентов для фракционирования ДНК

Зобнина Анастасия Евгеньевна, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

13:00 – 13:30

Role of proteins in the green synthesis of inorganic nanoparticles

Mohd Sajid Khan, Integral University, India

13:30 – 14:30

Перерыв на обед

Председатель к.х.н. Синяков Александр Николаевич, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

д.х.н. Абрамова Татьяна Вениаминовна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

14:30 – 15:00

Лекция спонсора

Изучение структуры и свойств биомолекул методом спектроскопии кругового дихроизма

Представитель компании "Техноинфо"

15:00 – 15:25

Экспресс-анализ ДНК при помощи кварцевых резонаторов

Дульцев Федор Николаевич, Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН, Новосибирск, Россия

15:25 – 15:50

Производные 6-метилурацила, несущие триазольные фрагменты – новый класс антимикробных агентов

Волошина Александра Дмитриевна, ИОФХ им. А.Е. Арбузова Каз НЦ РАН, Казань, Республика Татарстан

15:50 – 16:15

АнтионкоРАН-М – потенциальный противоопухолевый генно-терапевтический препарат

Алексеев Илья Васильевич, Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

16:15 – 16:40

Антифунгальные макролидные антибиотики из актиномицетного штамма ИНА 18/11

Тюрин Антон Павлович, НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва, Россия

16:40 – 17:05

Пеуцеданин в направленном синтезе модифицированных кумаринов

Липеева Алла Викторовна, Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск, Россия

17:05 – 17:30

Синтез и противоопухолевая активность N,N'-(алкандиил) бис[лабда-7(9),13,14-триен-4-карбоксамидов]

Харитонов Юрий Викторович, Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск, Россия

26th July 2016

International Research Workshop Targeting the RNA World

supported by Russian Scientific Foundation grant № 14-44-00068

Conference hall, NIOCH SB RAS

Session 4. Delivery of Therapeutic Nucleic Acids

Chairs: Dr. Alexandre S. Boutorine, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France

Prof. Masayuki Fujii, Department of Environmental and Biological Chemistry, Kinki University, Iizuka, Fukuoka, Japan

9:00 – 9:30

Delivering difficult drugs: poorly-soluble small molecules and poorly-permeable large molecules

Prof. David Clarke, University of Manchester, UK

9:30 – 10:00

Design of lipid systems for nucleic acids delivery

Dr. Mikhail A. Maslov, Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies, Moscow, Russia

10:00 – 10:30

Novel modular gene delivery systems for targeted delivery of therapeutic nucleic acids

Dr. Marina A. Zenkova, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

10:30 – 10:50

Biodistribution of therapeutic siRNA and Ch-siRNA in tumor-bearing mice

Daniil V. Gladikh, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

10:50 – 11:10

In vivo evaluation of cell-penetrating peptide conjugates of phosphoryl guanidine oligonucleotides as new potential therapeutics for Duchenne muscular dystrophy

Dr. Alesya A. Fokina, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

11:10 – 11:40

Coffee break

Chair: Prof. David Clarke, University of Manchester, UK

Dr. Mikhail A. Maslov, Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies, Moscow, Russia

11:40 – 12:10

New fluorescent pyrrole-imidazole polyamide probes for cell imaging: synthesis, target DNA binding and interaction with fixed and living murine and human cells

Dr. Alexandre S. Boutorine, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France

12:10 – 12:30

Antiviral activity of phosphodiester, phosphorothioate and phosphoryl guanidine oligonucleotides delivered into MDCK cells infected with H5N1 influenza A virus by lipofectamine or TiO₂ nanoparticles

Dr. Asya S. Levina, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

12:30 – 12:50

Effect of delivery systems on biological activity of oligonucleotides

Dr. Valentina F. Zarytova, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

12:50 – 13:10

Synthesis of phosphorus-containing dendrimers towards biological applications

Rebout Cyrille, Laboratoire de Chimie de Coordination du CNRS, Toulouse, France

13:10 – 13:30

The design of dendritic systems for the delivery of therapeutic nucleic acids

Dr. Evgenyi K. Apartsin, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

13:30– 14:30

Lunch

Young Scientist Session

Chairs: Dr. Olga A. Patutina, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

Dr. Alexander A. Lomzov, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

14:30 – 14:45

Study of antibacterial activity of phosphoryl guanidine oligo-2'-O-methylribonucleotides against *Proteus mirabilis*

Valerya S. Apuhtina, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

14:45 – 15:00

New oligonucleotide derivatives with internucleotide N-tosyl phosphoramidate groups: synthesis and some properties

Darya Prohorova, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

15:00 – 15:15

Search for an optimal oligonucleotide for selective targeting to mature miRNA

Svetlana K. Miroshnichenko, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

15:15 – 15:30

Molecular mechanisms of antiproliferative and interferon-inducing activity of short immunostimulating RNA

Mikhail Zhorov, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

15:30 – 15:45

Inhibition of invasive properties of murine melanoma by bovine pancreatic DNase I *in vitro* and *in vivo*

Ludmila A. Alekseeva, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

15:45 – 16:00

Plasma miRNAs as biomarkers of lung cancer

Ivan A. Zaporozhenko, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

16:00 – 16:15

Regulatory RNAs of human blood extracellular structures

Anna V. Savelyeva, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

16:15 – 16:30

Overview of Targeting RNA World session

Young scientist awards

Prof. Marina A. Zenkova, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

16:30- 17:00

Coffee break

17:00- 19:00

Poster session

26 июля 2016

Секция 2. Механизмы репарации ДНК и их регуляция

Конференционный зал, ИХБФМ СО РАН

Председатели чл.-корр. РАН Разин Сергей Владимирович, Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

чл.-корр. РАН Лаврик Ольга Ивановна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

9:00 – 9:30

Поли(АДФ-рибозо)-полимеразы – ключевые регуляторы процессов репарации ДНК

Лаврик Ольга Ивановна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

9:30 – 09:55

Белок-белковые взаимодействия участников эксцизионной репарации оснований ДНК

Моор Нина Александровна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

9:55 – 10:20

Chemical synthesis of mono-ADP-ribosylated peptides and oligo-ADP-ribose chains

Филиппов Дмитрий, Лейденский университет, Нидерланды

10:20 – 10:35

Comparative investigation of interaction of PARP-1 and PARP-2 with apurinic/apyrimidinic DNA

Кутузов Михаил Михайлович, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

10:35 – 10:50

Активность APE1 на промежуточных субстратах репарации tandemных повреждений

Дырхеева Надежда Сергеевна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

10:50 – 11:10

Перерыв на кофе

Председатели чл.-корр. РАН Разин Сергей Владимирович, Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

чл.-корр. РАН Лаврик Ольга Ивановна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

11:10 – 11:35

Информация в ДНК и ее актуализация в живых системах: проблемы чтения текста на молекулярном уровне

Жарков Дмитрий Олегович, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

11:35 – 12:00

Кинетические и термодинамические особенности механизмов узнавания повреждений ДНК ферментами репарации

Кузнецов Никита Александрович, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

12:00 – 12:25

Репарация кластерных повреждений ДНК с участием белков эксцизионной репарации оснований и нуклеотидов

Речкунова Надежда Ивановна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

12:25 – 12:50

Узнавание 5,6-дигидроурацила в ДНК AP-эндонуклеазами APE1 человека и Ape1 из *Saccharomyces cerevisiae*: молекулярная динамика фермент-субстратных комплексов

Коваль Владимир Васильевич, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

12:50 – 13:15

Ингибиторы тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 – потенциальные антираковые препараты

Захаренко Александра Леонидовна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

13:15 – 14:15

Перерыв на обед

Председатели д.х.н. Готтих Марина Борисовна, НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ, Москва, Россия

д.х.н. Моор Нина Александровна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

14:15 – 14:40

ДНК с объемными заместителями как инструмент исследования процесса ЭРН

Петрусева Ирина Олеговна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

14:40 – 14:55

Экзизионная репарация нуклеотидов: структурные основы распознавания объемных повреждений

Евдокимов Алексей Николаевич, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

14:55 – 15:10

Взаимодействие различных путей репарации в процессе активного деметилирования ДНК

Грин Инга Ростиславовна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

15:10 – 15:25

Изучение короткоживущих комплексов системы репарации «мисматчей» *E. coli* с помощью фиксации белка MutS на ДНК

Монахова Майя Викторовна, НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ, Москва, Россия

15:25 – 15:40

Влияние альтернативного сплайсинга по второму экзону на ДНК-полимеразную и дРФ-лиазную активности ДНК-полимеразы йота

Макарова Алена Владимировна, Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

15:40 – 15:55

DNA Polymerase Iota as one of the participants of Clustered Damage Repair

Белоусова Екатерина Анатольевна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

15:55 – 16:15

Перерыв на кофе

Young Scientist Session

Председатели к.х.н. Кузнецов Никита Александрович, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

к.х.н. Белоусова Екатерина Анатольевна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

16:15 – 16:30

Multifunctional protein YB-1 as a noncanonical factor of DNA repair

Elizaveta Alemasova, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

16:30 – 16:45

Ku antigen displays the AP lyase activity on a certain type of duplex DNA

Anastasiya Kosova, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

16:45 – 17:00

Effect of opposite strand bases in damage containing DNA substrates on the activities of pro- and eukariotic AP endonucleases

Anastasiya Miroshnikova, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

17:00 – 17:15

Effect of AP endonuclease APE1 on the activities of DNA glycosylases MBD4 and TDG in base excision repair pathway

Danila Yakovlev, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

17:15 – 17:30

DNA damage processing by human 8-oxoguanine-DNA glycosylase mutants: stopped-flow FRET study

Maria Lukina, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

17:30 – 17:45

Recognition of damaged DNA bases by 8-oxoguanine-DNA glycosylases from different structural superfamilies

Anton Endutkin, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

17:45 – 18:00

Impacts of amino acid residues G42, R154, Y203, R204, K249, D268 in recognition and binding of DNA damages by 8-oxoguanine-DNA glycosylase hOGG1

Timofey Tyugashev, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

18:00 – 18:15

Model DNAs containing bulky lesions and their interaction with NER proteins

Natalia Lukyanchikova, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

18:15 – 18:30

Design and application of new methods to improve the quality of degraded DNA templates in PCR amplification

Antonina Dvornikova, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

18:30 – 18:45

Interactions of DNA polymerases with DNA-protein cross-links and proteins tightly bound to DNA

Anna Yudkina, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

27 июля 2016

Секция 3. Биомедицинская химия

Конференционный зал, НИОХ СО РАН

Председатель профессор д.х.н. Невинский Георгий Александрович, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

профессор д.б.н. Щелкунов Сергей Николаевич, ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор", Кольцово, Россия

9:00 – 9:25

Immunogenicity of damaged DNA and proteins by advanced glycation end-products (AGEs): A probable bio-marker for the auto-immune diseases

Ahmad Saheem, Integral University, India

9:25 – 9:50

Changes in biochemical and immunologic parameters, lymphocyte proliferation, and hematopoietic progenitor colony formation in experimental autoimmune encephalomyelitis mice treated with myelin oligodendrocyte glycoprotein

Невинский Георгий Александрович, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

9:50 – 10:15

Как индуцировать наработку антител заданной структуры и как это может быть полезно для создания вакцины против ВИЧ?

Таранин Александр Владимирович, Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

10:15 – 10:40

Терапевтические препараты на основе бактериофагов: настоящее фаготерапии и будущие стратегии

Тикунова Нина Викторовна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

10:40 – 11:05

Исследование поверхности 3D-матриков с помощью химической модификации и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии

Лактионов Павел Петрович, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

11:05 – 11:30

Перерыв на кофе

Председатели д.б.н. Таранин Александр Владимирович, Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН

Prof. Mustaev Arkadyi, PHRI Center at Rutgers, the State University of New Jersey

11:30 – 11:55

Использование антагониста фактора некроза опухолей, кодируемого вирусом натуральной оспы, для терапии хронических воспалительных состояний

Щелкунов Сергей Николаевич, ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор", Кольцово, Россия

11:55 – 12:15

Модульная система лентивирусных векторов для работы с химерными антигенными рецепторами

Кулемзин Сергей Викторович, Институт молекулярной и клеточной биологии

12:15 – 12:35

**Гуманизированное антитело против вируса клещевого энцефалита:
от фундаментальных исследований до лекарственного средства**

*Байков Иван Константинович, Институт химической биологии и фундаментальной
медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

12:35 – 12:55

Механизмы фотосенсибилизированной агрегации белков хрусталика

*Зеленцова Екатерина Анатольевна, Институт "Международный томографический
центр" СО РАН, Новосибирск, Россия*

12:55 – 14:00

Перерыв на обед

*Председатели д.б.н. Тикунова Нина Викторовна, Институт химической биологии и
фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

Prof. Mustaeв Arkadyi, PHRI Center at Rutgers, the State University of New Jersey, USA

14:00 – 14:25

Bioinspired design of aggressive antibacterial agents

Prof. Mustaeв Arkadyi, PHRI Center at Rutgers, the State University of New Jersey

14:25 – 14:45

**Противоопухолевая активность рекомбинантного вируса осповакцины
LIVP-GFP в клетках лимфосаркомы с фенотипом множественной лекарственной
устойчивости**

*Гончарова Елена Павловна, Институт химической биологии и фундаментальной
медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

14:45 – 15:05

**Онколитическая активность двойного рекомбинантного вируса осповакцины,
кодирующего гены лактаптина и GM-CSF человека**

*Коваль Ольга Александровна, Институт химической биологии и фундаментальной
медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

15:05 – 15:20

**Опухолеспецифические пептиды как способ повышения противоопухолевой
активности RL2**

*Немудрая Анна Андреевна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины
СО РАН, Новосибирск, Россия*

15:20 – 15:40

**Морфологические изменения в селезенке и печени мышей с меланомой B16 при
лечении дакарбазином и isPHK**

*Сенькова Александра Васильевна, Институт химической биологии и фундаментальной
медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

15:40 – 16:00

Оценка гепатопротекторной активности новых производных Ксимедона

*Выштакалюк Александра Борисовна, Институт органической и физической химии
им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казань, Республика Татарстан*

16:00 – 16:20

Лекция спонсора

**Обзор новинок оборудования и расходных материалов для современных
исследований белков и нуклеиновых кислот**

Чепурнова Татьяна Севостьяновна, компания Диаэм, Новосибирск, Россия

16:20 – 16:50

Перерыв на кофе

Председатель д.х.н. Годовикова Татьяна Сергеевна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия
д.б.н. Рыкова Елена Юрьевна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

16:50 – 17:10

Лекция спонсора

Проблемы анализа биотерапевтических препаратов и комплексные подходы к их решению

Кирилюк Александр Анатольевич, ООО «Химэксперт», Новосибирск, Россия

17:10 – 17:30

Пептиды актиний – перспективные цитопротекторы

Лейченко Елена Владимировна, Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН, Владивосток, Россия

17:30 – 17:50

Анализ механизма биологической активности Солоксолон метила - производного глицеретовой кислоты

Логащенко Евгения Борисовна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

17:50 – 18:10

Поиск неинвазивных маркеров эффективности противоопухолевой терапии при раке легкого: динамика метилирования LINE-1 ретротранспозонов в крови

Рыкова Елена Юрьевна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

18:10 – 18:30

Study of cell-free DNA methylation patterns by next generation sequencing in search of prostate cancer diagnostics

Бондарь Анна Александровна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

18:30 – 18:50

Theranostic nanoplatforms for simultaneous cancer imaging and therapy: multifunctional nanoassemblies of human serum albumin and therapeutic nucleotides

Dr Tatiana Godovikova, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

18:50 – 19:10

Полиэпитопная ДНК-вакцина против рака молочной железы: конструирование, доставка в дендритные клетки человека и исследование иммуногенности

Назаркина Жанна Константиновна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

19:10 – 19:30

Tissue engineering of vascular grafts: design and study of electrospun produced 3D matrices

Степанова Алена Олеговна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

27 июля 2016

Секция 4. Белково-нуклеиновые взаимодействия в надмолекулярных комплексах

Конференционный зал, ИХБФМ СО РАН

Председатель профессор д.х.н. Карпова Галина Георгиевна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

к.б.н. Кнорре Дмитрий Алексеевич, НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ, Москва

9:00 – 9:30

Self-organization of higher-order chromatin domains

Разин Сергей Владимирович, Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

9:30 – 10:00

Telomere and telomerase - new features

Донцова Ольга Анатольевна, НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, МГУ, Москва, Россия

10:00 – 10:30

Неканонические функции главной и альтернативных сигма-субъединиц бактериальной РНК-полимеразы в транскрипции

Кульбачинский Андрей Владимирович, Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

10:30 – 11:00

Как клеточный белок Ku помогает репликации ВИЧ-1

Готтих Марина Борисовна, НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, МГУ, Москва, Россия

11:00 – 11:30

Перерыв на кофе

Председатель член-корр. РАН Кочетков Сергей Николаевич, Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

профессор д.б.н. Жарков Дмитрий Олегович, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

11:30 – 11:55

Снижение трансмембранного потенциала митохондрий индуцирует митофагию и препятствует экспансии эгоистичной митохондриальной ДНК в зиготах дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Кнорре Дмитрий Алексеевич, НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ, Москва, Россия

11:55 – 12:15

Особенности взаимодействия гетеродимерной эндонуклеазы рестрикции BspD6I с модифицированными фрагментами ДНК

Абросимова Людмила Алексеевна, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

12:15 – 12:35

Механизмы формирования напряжённого комплекса РНК-полимеразы на промоторе и при образовании сигма-зависимых пауз транскрипции

Петушков Иван Владимирович, МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

12:35 – 12:55

Лекция спонсора

Автоматическая многостадийная очистка моноклональных антител на хроматографической системе NGC

Григорьев Илья, БиоРад, Новосибирск, Россия

12:55 – 13:15

Лекция спонсора

Современные решения для анализа концентрации и чистоты нуклеиновых кислот с помощью УФ/ВИД спектроскопии

А.Р. Шайхлисламова, А.Я. Сенечко, АО "Меттлер-Толедо Восток", Россия

13:15 – 14:15

Перерыв на обед

Председатель чл.-корр. РАН Донцова Ольга Анатольевна, НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, МГУ, Москва, Россия

Dr. Krol Alan, Institute of Molecular and Cellular Biology CNRS, University of Strasbourg, Strasbourg, France

14:15 – 14:45

Genetic code reprogramming. The case of the UGA-encoded selenocysteine

Krol Alan, Institute of Molecular and Cellular Biology CNRS, University of Strasbourg, Strasbourg, France

14:45 – 15:10

Peculiarities of translation initiation in mammals related to interplay of ribosomal protein uS3, initiation factor eIF3j and mRNA

Грайфер Дмитрий Маратович, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

15:10 – 15:25

Involvement of human ribosomal protein eS1 in the U11 snRNA biogenesis

Гопаненко Александр Витальевич, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

15:25 – 15:45

Белки YB-1 и NSUN2 как потенциальные участники процесса сортировки мРНК в экзосомы

Малыгин Алексей Аркадьевич, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

15:45 – 16:00

Interaction of isolated and 40S subunit-bound human ribosomal protein uS3 with abasic sites in DNA

Anastasya S. Grosheva, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

16:00 – 16:30

Перерыв на кофе

Председатель д.б.н. Кульбачинский Андрей Владимирович, Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

д.х.н. Грайфер Дмитрий Маратович, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

16:30 – 16:50

Интеллектуальный интерпретатор последовательностей белков и пептидов

Шлихт Анатолий Григорьевич, Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

16:50 – 17:10

Идентификация белков, опосредующих транспорт внеклеточных ДНК в кровотоке

Тамкович Светлана Николаевна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

17:10 – 17:25

Анализ циркулирующих экзосом крови в норме и при злокачественных новообразованиях молочной железы

Тутанов Олег Сергеевич, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

17:25 – 17:45

Фактор молока человека, стимулирующий обмен иммуноглобулинов HL-фрагментами

Седых Сергей Евгеньевич, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

17:45 – 18:05

Количественные изменения в белковом профиле крови больных биполярным расстройством и шизофренией

Черносов Александр Анатальевич, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

18:05 – 18:25

RNA aptamers against autoantibodies associated with multiple sclerosis: selection, design and prospects of application

Dr Marya A. Vorobyeva, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

18:25 – 18:45

In vitro selection of cell-internalizing 2'-modified RNA aptamers against *P. aeruginosa*

Anna S. Davydova A., Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

28 июля 2016

Конференционный зал, ИХБФМ СО РАН

10:00 – 14:00

Поздравления академика Кнорре Дмитрия Георгиевича

18:00 – 22:00

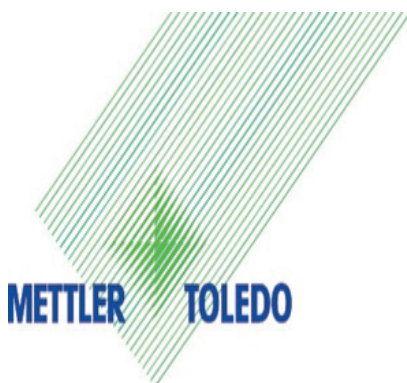
Банкет в ресторане Дома Ученых

КОНФЕРЕНЦИЯ ОРГАНИЗОВАНА ПРИ ФИНАНСОВОЙ ПОДДЕРЖКЕ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК,
РОССИЙСКОГО ФОНДА ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ
(проект РФФИ № 16-04-20436)

ГЕНЕРАЛЬНЫЕ СПОНСОРЫ:



ООО «Диаэм»
www.dia-m.ru



АО «Меттлер-Толедо Восток»
ru.mt.com



ХИМЭКСПЕРТ

ООО «Агентство Химэксперт»
www.khimexpert.ru



ООО «Био-Рад Лаборатории»
www.bio-rad.com



ЗАО «Биосан»
www.biosan-nsk.ru

ОСНОВНЫЕ СПОНСОРЫ:



ООО «Техноинфо»
www.technoinfo.ru

СПОНСОРЫ:



ООО «Аламед»
www.alamed.ru



ООО «БИОССЕТ»
www.biosset.com



ООО "МЕДИГЕН"
www.medigen.ru



Геномика - Протеомика



illumina



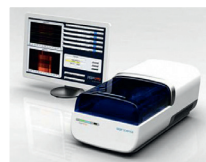
life technologies



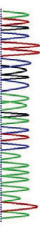
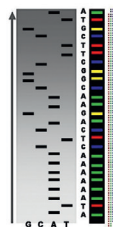
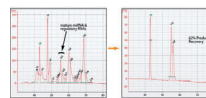
BIO-RAD

Геномика

- Секвенирование генов и геномов
- Транскриптомика
- Определение копийности
- Изучение экспрессии генов
- Эпигенетика
- Ранняя диагностика
- SNP-анализ
- Молекулярные маркеры
- Поиск мутаций
- NGS секвенаторы



sage science



QIAGEN



Протеомика

- Мультиплексный анализ
- Выделение, перенос, очистка белков
- Масс - спектрометрия
- Анализ взаимодействий биомолекул
- Турбооблоттинг



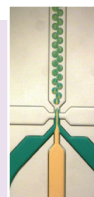
VIBRIO LOURMAT



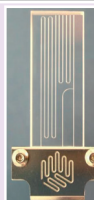
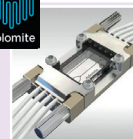
BIO-RAD



BIO-RAD



dolomite



Диаэм | www.dia-m.ru

Москва: ул. Магаданская, 7 стр. 3 | тел.: (495) 745-0508 | фкс: (495) 745-0509 | sales@dia-m.ru

Новосибирск: пр. Ак. Лаврентьева, 6/1 | тел/факс: (383) 328-0048 | nsk@dia-m.ru

Казань: Оренбургский тракт 20, оф. 217 | тел/факс: (843) 277-6040 | kazan@dia-m.ru

Ростов-на-Дону: пер. Семашко, 114 | тел/факс: (863) 250-00-06 | rnd@dia-m.ru



Лабораторные весы и компараторы массы

Лабораторные весы, аналитические, технические, микро- и ультрамикровесы, автоматическое дозирование порошков и жидкостей, анализаторы влажности, гири для тестирования



Промышленные весы и датчики веса

Настольные весы, портативные весы, настольные весы, счетные весы, весы для контрольного взвешивания, весы для смешивания красок, терминалы, весовые модули, датчики веса



Встраиваемое оборудование для контроля продукции

Динамические чеквейеры, металлодетекторы, системы рентгеновского контроля, системы для отслеживания и контроля продукции, системы визуального контроля



Пипетки и наконечники Rainin

Ручные и электронные пипетки Rainin, многоканальные пипетки, наконечники BioClean для пипеток, высокопроизводительное дозирование



Промышленные аналитические системы

Датчики pH, датчик ОВП, кислорода, CO₂, датчики озона, бионагрузка, общая концентрация органического углерода, газ, анализаторы натрия и двуокиси кремния, трансмиттеры



Транспорт и логистика

Автомобильные/железнодорожные весы, измерение габаритов, динамическое взвешивание, почтовые весы



Аналитические приборы

Титраторы, плотномеры, рефрактометры, измерительные приборы и датчики pH, электропроводности, растворенного кислорода и ионов, оборудование для термического анализа, спектрофотометры



Автоматизация химических процессов

Определение характеристик частиц, анализ реакций, реакционные калориметры, лабораторные реакторы, анализ распределения частиц по размеру, анализ технологических процессов



Торговые весы и системы

Весы для самообслуживания, весы для прилавка, контрольно-кассовые весы, системы этикетирования, программное обеспечение

METTLER TOLEDO

МЕТТЛЕР ТОЛЕДО – транснациональная корпорация, крупнейший в мире производитель лабораторного, промышленного и торгового весоизмерительного оборудования. Компания занимает лидирующие позиции в разработке и производстве аналитических приборов для лабораторий и промышленности.

Приборы и оборудование МЕТТЛЕР ТОЛЕДО находят свое применение в научно-исследовательских и заводских лабораториях, при дозировании жидких и сыпучих материалов, на линиях упаковки и контроля качества продукции, определении габаритов перевозимых грузов и многих других областях промышленности, науки и торговли.

Корпорация МЕТТЛЕР ТОЛЕДО представлена в 120 странах мира, причем более чем в 40 из них имеет собственные подразделения. Производственные предприятия находятся в Германии, Франции, Великобритании, Швейцарии, США и Китае.

Вся продукция МЕТТЛЕР ТОЛЕДО произведена в соответствии с международными стандартами качества и экологической безопасности. Оборудование, поставляемое на рынок СНГ, имеет сертификаты Ростехрегулирования и ряда других сопредельных стран, внесено в Государственный реестр средств измерений.

Также МЕТТЛЕР ТОЛЕДО предлагает своим клиентам:

- комплексное решение прикладных задач с разработкой методик анализов,
- установку оборудования и обучение персонала,
- гарантийное и послегарантийное обслуживание в любой точке СНГ,
- всестороннюю информационную поддержку.

МЕТТЛЕР ТОЛЕДО СНГ
101000 Москва,
Сретенский бульвар, 6/1
Тел.: (495) 651-98-86
(495) 621-56-66
Факс: (499) 272-22-74

E-mail: inforus@mt.com
Internet: www.mt.com

Екатеринбург (343) 378-48-50
Красноярск (391) 268-19-30
Ростов-на-Дону (863) 218-10-78
Самара (846) 273-85-18
Уфа (347) 248-14-96
Казань (843) 272-51-92
Новосибирск (383) 276-02-84
Киев +38 (044) 461-78-02
Алматы +7 (727) 250-63-69
Хабаровск (4212) 91-02-39

Подробная информация
и технические характеристики

www.mt.com

METTLER TOLEDO





БИОСАН

www.biosan-nsk.ru



Биолабмикс

www.biolabmix.ru

Модифицированные нуклеозид-5'-трифосфаты

Нуклеозид-5'-трифосфаты (dNTPs/NTPs)

Иммунобиологические реактивы

Олигонуклеотидный синтез

ДНК-маркеры

Ферменты



Синтез первой цепи кДНК

Стандарная ПЦР

ПЦР в режиме реального времени

ОТ-ПЦР и количественная ОТ-ПЦР



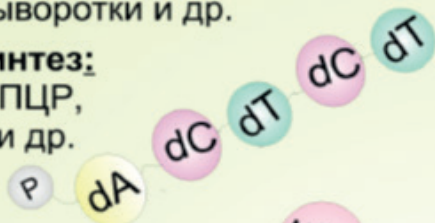
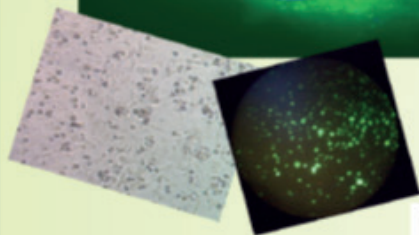
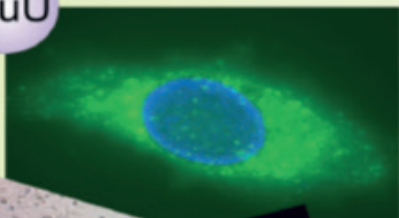
Иммунобиологические реактивы:

Моноклональные антитела, HRP-конъюгаты, биотинилированные антитела, иммуносорбенты, антисыворотки и др.

Олигонуклеотидный синтез:

Праймеры и зонды для ПЦР, олигорибонуклеотиды и др.

FluU



Ферменты:

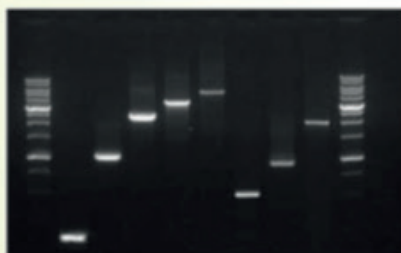
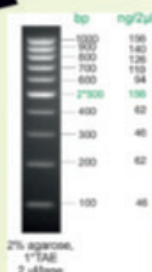
T4 ДНК-лигаза,
Ревертаза M-MLV,
T7 РНК-полимераза,
Taq ДНК-полимераза,
T4 полинуклеотидкиназа,
Урацил-ДНК-гликозилаза

M-MLV
RT

Taq
pol

ДНК-маркеры:

Широкий диапазон
длины
от 50 пн до 10000 нп.



ЗАО "Биосан/ ООО "Биолабмикс"
630090, г. Новосибирск, ул. Инженерная, 28
т. (383) 363 51 91, 363 22 40

mail@biosan-nsk.ru
sales@biolabmix.ru
www.biosan-nsk.ru
www.biolabmix.ru



MEDIGEN
ОТ ПРОБИРКИ ДО ЛАБОРАТОРИИ

WWW.MEDIGEN.RU

«МЕДИГЕН» - компания, работающая для Вас на рынке лабораторных принадлежностей, необходимых исследовательским и диагностическим лабораториям, связанных с молекулярной и клеточной биологией, биохимией, медицинской генетикой и другими не менее интересными областями науки.

Наша цель - обеспечить максимально комфортные условия для Ваших исследований, научных и прикладных, чтобы Вы имели больше возможностей для творчества в реализации своих идей.

Для эффективной работы любой лаборатории Компания «МЕДИГЕН» предлагает:



БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКТИВЫ

ЛАБОРАТОРНЫЕ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

- Наконечники
- Пробирки и пробки
- Плашки
- Планшеты
- Чашки Петри
- Пипетки
- Петли бактериологические
- Шпатели
- Штативы
- Резервуары для реагентов
- Зонды, цитощетки, транспортные среды
- Перчатки
- Расходные материалы для дезинфекции, стерилизации и утилизации



ЛАБОРАТОРНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

- pH-метры, иономеры
- Амплификаторы
- Весы
- Дозаторы
- Центрифуги и вортексы
- Ламинарные шкафы, ПЦР-боксы
- Приборы для электрофореза
- Трансиллюминаторы
- Термостаты, термошейеры
- Шейеры, ротаторы, мешалки



МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ

- ПЦР-продукты
- ДНК, ДНК-маркеры и олигонуклеотиды
- Трифосфаты
- Ферменты для молекулярной биологии

НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ

- Биосилика
- QIAGEN
- Амплисес



Компания «МЕДИГЕН» является официальным дистрибьютором ведущих отечественных и зарубежных производителей.



Новосибирск, Зеленая Горка 1, оф.216
+7 (383) 335-98-05, 373-32-45, 373-32-46
e-mail: medigen@medigen.ru

Санкт-Петербург, ул.Академика Павлова 12
менеджер: Захарова Фаина Михайловна
+7 (911) 256-15-94
e-mail: spb@medigen.ru



76 % болеют за команду хозяев

в 2,3 раза больше мужчин, побритых наголо, по сравнению с прошлой игрой

44 000 улыбок

у 28% голубые глаза

SWATH™ Acquisition – количественная оценка любых параметров

УСКОРЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ



Протеомика ставит перед учеными крайне сложные и разноплановые задачи. Представьте себе метод, способный точно измерить рост и вес каждого человека на этом стадионе... а также цвет глаз, за какую команду он или она болеет. И все это по одному изображению!

Благодаря SWATH™ Acquisition и системе SCIEX TripleTOF 5600+, вы получите количественную оценку MRM-качества по каждому детектируемому пептиду... и сможете исследовать любые модификации и белковые взаимодействия. Вы получите все данные по результатам одного эксперимента!

Узнайте, как провести количественный анализ на www.absciex.com/swath



ХИМЭКСПЕРТ

Эксклюзивный дистрибьютор компании SCIEX в России:
Агентство «Химэксперт», 127006, Москва, ул.
Краснопролетарская, дом 7, офис 2
Тел./Факс: +7 (499) 973-92-80
E-mail: info@khimexpert.ru
www.khimexpert.ru



СОДЕРЖАНИЕ

ТЕЗИСЫ ОТКРЫТИЯ КОНФЕРЕНЦИИ

«МАГИЧЕСКАЯ ПУЛЯ» И ПРОБЛЕМЫ КОМБИНАТОРНОЙ СЕЛЕКЦИИ В БИОФАРМАЦЕВТИКИ	46
Габибов А. Г.	
СОЦИАЛЬНО ЗНАЧИМЫЕ ИНФЕКЦИИ: ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ И ПОИСК НОВЫХ БЛОКАТОРОВ	47
Кочетков С. Н.	
ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ РЕГУЛЯТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА КЛЕТОЧНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ	48
Мясоедов Н. Ф., Лимборская С. А.	
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕДИАТОРЫ ИММУНИТЕТА, ИХ РОЛЬ В ЗАБОЛЕВАНИЯХ И НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ТЕРАПИИ	49
Недоспасов С. А.	

"TARGETING THE RNA WORLD". SESSION 1. CHEMISTRY AND DESIGN OF FUNCTIONALITY

STAUDINGER REACTION REVISITED: OLD DOG TAUGHT NEW TRICKS	51
Chelobanov B. P., Apukhtina V. S., Prokhorova D. V. Zakhryamina A. E. Burakova E. A., Vasilyeva S. V., Fokina A. A., <u>Stetsenko D. A.</u>	
PERYLENE DERIVATIVES OF NUCLEOSIDES: SYNTHESIS AND ANTIVIRAL PROPERTIES	52
Chistov A. A., Proskurin G. V., Orlov A. A., Aralov A. V., Brylev V. A., Tyurin A. P., Prokhorenko I. A., Kutyakov S. V., Aparin I. O., Ivanov N. M., Ulashchik E. A., Streshnev F. P., Sapozhnikova K. A., Korelskaya K. S., Myasoutova A. A., Shmanai V. V., Ustinov A. V., Osolodkin D. I., <u>Korshun V. A.</u>	
SIMPLE APPROACH TO THE SYNTHESIS OF OLIGONUCLEOTIDE CONJUGATES WITH BIODEGRADABLE LINKERS	53
<u>Meschaninova M. I.</u> , Mozhaytsev E. S., Permyakova E. S., Dovydenko I. S., Venyaminova A. G.	
DESIGN OF MULTIFUNCTIONAL BIOCOMPATIBLE STRUCTURES BASED ON GOLD NANOPARTICLES	54
<u>Pyshnaya I. A.</u> , Shashkova V. V., Epanchintseva A. V., Vorobjev P. E., Razum K. V., Ryabchikova E. I., Pyshnyi D. V.	
RATIONAL APPROACHES TO CREATING FUNCTIONAL OLIGONUCLEOTIDES	55
Pyshnyi D. V.	

SYNTHESIS OF FUNCTIONALIZED OLIGONUCLEOTIDES USING NON-NUCLEOSIDIC AMIDITES WITH UNIFIED STRUCTURE	56
<u>Kupryushkin M. S.</u> , Nekrasov M. D., Shevelev G. Y., Filatov A. V., Pyshnyi D. V.	
DNA-BASED CONCATAMERIC NANOSTRUCTURES FORMATION USING NATIVE AND MODIFIED OLIGONUCLEOTIDES	57
<u>Shevelev G. Y.</u> , Kupryushkin M. S., Lomzov A. A., Pyshnyi D. V.	
PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF CONCATAMERIC DNA COMPLEXES	58
<u>Lomzov A. A.</u> , Filippov N. S., Kizilova V. A., Vinogradova O. A., Shevelev G. Yu., Pyshnyi D. V.	
SOI-FET SENSOR FOR SPECIFIC LABEL-FREE DETECTION OF SHORT RNA MARKERS	59
<u>Dmitrienko E. V.</u> , Naumova O. V., Fomin B. I., Kupryushkin M. S., Potyvaeva A. V., Tronin A. V., Amirhanov N. V., Semenov D. V., Pyshnaya I. A., Pyshnyi D. V.	
FLUORESCENT LABELING OF TAQMAN OLIGONUCLEOTIDE PROBES VIA CU(I)-CATALYZED ALKYNE-AZIDE CYCLOADDITION (CUAAC)	60
“CLICK” CHEMISTRY <u>Vasilyeva S. V.</u> , <u>Burakova E. A.</u> , Zhdanova L. G., Anisimenko M. S., Stetsenko D. A.	

"TARGETING THE RNA WORLD". SESSION 2. STRUCTURAL INSIGHTS INTO RNA FUNCTIONS

CHEMICAL BIOLOGY FOR RNA MANIPULATION: RATIONAL DESIGN OF SUPRAMOLECULAR BIOCATALYTIC SYSTEMS	62
Bichenkova E. V.	
MIRNASES: OLIGONUCLEOTIDE-PEPTIDE CONJUGATES TARGETED TO ONCOGENIC MIR-21	63
<u>Patutina O. A.</u> , Miroshnichenko S. K., Mironova N. L., Bichenkova E. V., Bazhenov M. A., Pyshnyi D. V., Vlassov V. V., Zenkova M. A.	
STRUCTURAL INVESTIGATION OF ACTIVITY AND RNA-BINDING PROPERTIES OF ARTIFICIAL RIBONUCLEASES	64
Linda T. Trivoluzzi	
DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC MIRNA DETECTION USING 3D PEPTIDE-HYDROGEL OLIGONUCLEOTIDE BIOSENSORS	65
Patric King	
ARTIFICIAL RIBONUCLEASES ON THE BASE OF OLIGONUCLEOTIDE-PEPTIDE CONJUGATES: ROLE OF CONFORMATIONAL FLEXIBILITY IN CATALYTIC CLEAVAGE OF RNA	66
<u>Staroseletz Y.</u> , Williams A., Bichenkova E., Zenkova M.	

**"TARGETING THE RNA WORLD". SESSION 3.
RNA TARGETING AND ITS EFFECTS ON BIOLOGICAL FUNCTIONS**

CHEMICAL MODIFICATION AND CONJUGATION OF SIRNA	68
Yasuhiro Shinkai, Shinichi Kashihara, Hirohumi Fujii, Go Minematsu, Madoka Naemura, Yojiro Kotake, <u>Masayuki Fujii</u>	
IMMUNOSTIMULATING RNA: ANTITUMOR AND ANTIMETASTATIC EFFECTS	69
Kabilova T. O., Sen'kova A. V., Nikolin V. P., Popova N. A., Vlassov V. V., Zenkova M. A., <u>Chernolovskaya E. L.</u>	
MECHANISMS OF INVOLVEMENT OF ARTIFICIAL NCRNA ANALOGUES IN GENE EXPRESSION REGULATION IN HUMAN CANCER CELLS	70
<u>Stepanov G. A.</u> , Juravlev E. S., Shender V. O., Filippova J. A., Nushtaeva A. A., Kuligina E. V., Richter V. A., Semenov D. V.	
TUMOR EVASION OF IMMUNOSURVEILLANCE: THE ROLE OF THE CELLULAR REACTIVE OXYGEN SPECIES (ROS)	71
Kunchai S., Krstic-Demonacos M., <u>Demonacos C.</u>	
CANCER RELATED PATHWAYS RESPOND TO RIBONUCLEASE A TREATMENT AFFECTING MICRORNA MACHINERY OF TUMOUR CELLS	72
<u>Mironova N. L.</u> , Patutina O. A., Brenner E. V., Kurilshikov A. M., Zenkova M. A.	

**"TARGETING THE RNA WORLD". SESSION 4.
DELIVERY OF THERAPEUTIC NUCLEIC ACIDS**

BIODISTRIBUTION OF THERAPEUTIC SIRNA AND CH-SIRNA IN TUMOR-BEARING MICE	74
<u>Gladkikh D. V.</u> , Chernikov I. V., Meschaninova M. I., Ven'yaminova A. G., Vlassov V. V., Zenkova M. A., Chernolovskaya E. L.	
IN VIVO EVALUATION OF CELL-PENETRATING PEPTIDE CONJUGATES OF PHOSPHORYL GUANIDINE OLIGONUCLEOTIDES AS NEW POTENTIAL THERAPEUTICS FOR DUCHENNE MUSCULAR DYSTROPHY	75
<u>Fokina A. A.</u> , Chelobanov B. P., McClorey G., Arzumanov A. A., Gait M. J., Wood M. J. A., Stetsenko D. A.	
NEW FLUORESCENT PYRROLE-IMIDAZOLE POLYAMIDE PROBES FOR CELL IMAGING: SYNTHESIS, TARGET DNA BINDING AND INTERACTION WITH FIXED AND LIVING MURINE AND HUMAN CELLS	76
Nozeret K., Loll, F., Escudé C., <u>Boutorine, A. S.</u>	
ANTIVIRAL ACTIVITY OF PHOSPHODIESTER, PHOSPHOROTHIOATE AND PHOSPHORYL GUANIDINE OLIGONUCLEOTIDES DELIVERED INTO MDCK CELLS INFECTED WITH H5N1 INFLUENZA A VIRUS BY LIPOFECTAMINE OR TiO₂ NANOPARTICLES	77
<u>Levina A. S.</u> , Repkova M. N., Chelobanov B. P., Bessudnova E. V., Mazurkova N. A., Stetsenko D. A., Zarytova V. F.	

EFFECT OF DELIVERY SYSTEMS ON BIOLOGICAL ACTIVITY OF OLIGONUCLEOTIDES	78
<u>Zarytova V. F.</u> , Repkova M. N., Ismagilov Z. R., Shatskaya N. V., Mazurkova N. A., Levina A. S.	
THE DESIGN OF DENDRITIC SYSTEMS FOR THE DELIVERY OF THERAPEUTIC NUCLEIC ACIDS	79
<u>Apartsin E.</u> , Majoral J.-P., Gómez R., Shcharbin D., Bryszewska M., Venyaminova A.	
DELIVERING DIFFICULT DRUGS: POORLY-SOLUBLE SMALL MOLECULES AND POORLY-PERMEABLE LARGE MOLECULES	80
David J. Clarke	
КОНСТРУИРОВАНИЕ ЛИПИДНЫХ СИСТЕМ ДОСТАВКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ	81
Морозова Н. Г, <u>Маслов М. А.</u>	
SYNTHESIS OF PHOSPHORUS-CONTAINING DENDRIMERS TOWARDS BIOLOGICAL APPLICATIONS	82
Rebout C., Majoral J.-P., Caminade A.-M.	
NOVEL MODULAR GENE DELIVERY SYSTEMS FOR TARGETED DELIVERY OF THERAPEUTIC NUCLEIC ACIDS	83
Kabilova T., Markov O., Gladkikh D., Filatov A., Chernolovskaya E., Shmendel E., Maslov M., <u>Zenkova M.</u>	

СЕКЦИЯ 1. ХИМИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

МИКРОЧИПОВЫЙ СИНТЕЗАТОР ДНК	85
<u>Синяков А. Н.</u> , Бессмельцев В. П., Камаев Г. Н., Поливанов П. А., Шелковников В. В.	
МОДИФИКАЦИЯ ТУШИТЕЛЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ VNQ1 ПРИ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЙ ОЧИСТКЕ ТАQMAN ЗОНДОВ	86
<u>Рябинин В. А.</u> , Костина Е. В., Максакова Г. А., Синяков А. Н.	
ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕКУРСОРНОГО ПОДХОДА ДЛЯ СИНТЕЗА СЕРИИ АНАЛОГОВ НАД⁺ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ПАРП 1	87
Шерстюк Ю. В., Захаренко А. Л., Кутузов М. М., Суханова М. В., Лаврик О. И., Сильников В. Н., <u>Абрамова Т. В.</u>	
ПРИМЕНЕНИЕ КОМПОЗИТНЫХ ТИТАНАТОВ, НИОБАТОВ И ТАНТАЛАТОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПОЛИАМИНОВ В КАЧЕСТВЕ СОРБЕНТОВ ДЛЯ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ ДНК	88
<u>Зобнина А. Е.</u> , Румянцев А. М., Бритвин С. Н., Падкина М. В.	
ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗ ДНК ПРИ ПОМОЩИ КВАРЦЕВЫХ РЕЗОНАТОРОВ	89
<u>Дульцев Ф. Н.</u> , Колосовский Е. А., Ломзов А. А., Пышный Д. В.	
DESIGN OF NUCLEIC ACID-POLYUNSATURATED FATTY ACID CONJUGATES: PROBLEMS AND PERSPECTIVES FOR IMPROVED CHEMOTHERAPY	90
<u>Popova T. V.</u> , Lisitskiy V. A., Zakharova O. D., Kaledin V. I., Ryabchikova E. I., Godovikova T. S.	

ДИЗАЙН И СИНТЕЗ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ПАРП-1 НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРОФОСФАТОВ НУКЛЕОЗИДОВ	91
<u>Шерстюк Ю. В.</u> , Захаренко А. Л., Кутузов М. М., Суханова М. В., Лаврик О. И., Сильников В. Н., Абрамова Т. В.	
ПРОИЗВОДНЫЕ 6-МЕТИЛУРАЦИЛА, НЕСУЩИЕ ТРИАЗОЛЬНЫЕ ФРАГМЕНТЫ – НОВЫЙ КЛАСС АНТИМИКРОБНЫХ АГЕНТОВ	92
<u>Волошина А. Д.</u> , Кулик Н. В., Стробыкина А. С., Крылова Е. С., Семенов В. Э., Ленина О. А., Зобов В. В.	
ОСОБЕННОСТИ ПРОНИКНОВЕНИЯ И ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ В СОСТАВЕ НАНОКОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА И ПОЛИЛИЗИНА	93
<u>Челобанов Б. П.</u> , Репкова М. Н., Байбородин С. И., Рябчикова Е. И., Стеценко Д. А.	
ROLE OF PROTEINS IN THE GREEN SYNTHESIS OF INORGANIC NANOPARTICLES	94
Mohd Sajid Khan	
ПЕУЦЕДАНИН В НАПРАВЛЕННОМ СИНТЕЗЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ КУМАРИНОВ	95
<u>Липеева А. В.</u> , Шульц Э. Э.	
СИНТЕЗ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ N,N'-(АЛКАНДИИЛ)БИС[ЛАБДА-7(9),13,14-ТРИЕН-4-КАРБОКСАМИДОВ]	96
<u>Харитонов Ю. В.</u> , Сорокина И. В., Покровский М. А., Шульц Э. Э.	
АНТИОНКОРАН-М – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ГЕННО-ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ	97
<u>Алексеев И. В.</u> , Безбородова О. А., Немцова Е. Р., Сасс А. В., Геворков А. Р., Хмелевский Е. В., Якубовская Р. И., Свердлов Е. Д.	
АНТИФУНГАЛЬНЫЕ МАКРОЛИДНЫЕ АНТИБИОТИКИ ИЗ АКТИНОМИЦЕТНОГО ШТАММА ИНА 18/11	98
<u>Алфёрова В. А.</u> , Новиков Р. А., Бычкова О. П., Рогожин Е. А., Прохоренко И. А., Степашкина Е. А., Шувалов М. В., Слюндина М. С., Королев А. М., Федорова Г. Б., Перегудов А. С., Терехова Л. П., Коршун В. А., Тренин А. С., <u>Тюрин А. П.</u>	

СЕКЦИЯ 2. МЕХАНИЗМЫ РЕПАРАЦИИ ДНК И ИХ РЕГУЛЯЦИЯ

ПОЛИ(АДФ-РИБОЗО)ПОЛИМЕРАЗЫ – КЛЮЧЕВЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ ПРОЦЕССОВ РЕПАРАЦИИ ДНК	100
Лаврик О. И.	
БЕЛОК-БЕЛКОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ УЧАСТНИКОВ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ОСНОВАНИЙ ДНК	101
<u>Моор Н. А.</u> , Васильева И. А., Анарбаев Р. О., Лаврик О. И.	
АКТИВНОСТЬ APE1 НА ПРОМЕЖУТОЧНЫХ СУБСТРАТАХ РЕПАРАЦИИ ТАНДЕМНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ	102
<u>Дырхеева Н. С.</u> , Sassa A., Çağlayan M, Beard W. A., Freudenthal B. D., Cuneo M. J., Лаврик О. И., Wilson S. H.	

ИНФОРМАЦИЯ В ДНК И ЕЕ АКТУАЛИЗАЦИЯ В ЖИВЫХ СИСТЕМАХ: ПРОБЛЕМЫ ЧТЕНИЯ ТЕКСТА НА МОЛЕКУЛЯРНОМ УРОВНЕ	103
Жарков Д. О.	
КИНЕТИЧЕСКИЕ И ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМОВ УЗНАВАНИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК ФЕРМЕНТАМИ РЕПАРАЦИИ	104
<u>Кузнецов Н. А., Федорова О. С.</u>	
УЗНАВАНИЕ 5,6-ДИГИДРОУРАЦИЛА В ДНК АР-ЭНДОНУКЛЕАЗАМИ АРЕ1 ЧЕЛОВЕКА И АРН1 ИЗ <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i>: МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА ФЕРМЕНТ-СУБСТРАТНЫХ КОМПЛЕКСОВ	105
Ломзов А. А., <u>Коваль В. В.</u>	
ИНГИБИТОРЫ ТИРОЗИЛ-ДНК-ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ 1 – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АНТИРАКОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ	106
<u>Захаренко А. Л.</u> , Волчо К. П., Лузина О. А., Хоменко Т. М., Суслов Е. В., Захарова О. Д., Рейниссон Й., Салахутдинов Н. Ф., Лаврик О. И.	
ЭКСЦИЗИОННАЯ РЕПАРАЦИЯ НУКЛЕОТИДОВ: СТРУКТУРНЫЕ ОСНОВЫ РАСПОЗНАВАНИЯ ОБЪЕМНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ	107
<u>Евдокимов А. Н.</u> , Попов А. В., Петрусева И. О., Лаврик О. И.	
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПУТЕЙ РЕПАРАЦИИ В ПРОЦЕССЕ АКТИВНОГО ДЕМЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК	108
<u>Грин И. Р.</u> , Ищенко А. А.	
DNA POLYMERASE IOTA AS ONE OF THE PARTICIPANTS OF CLUSTERED DAMAGE REPAIR	109
<u>Belousova E. A.</u> , Lavrik O. I.	
РЕПАРАЦИЯ КЛАСТЕРНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК С УЧАСТИЕМ БЕЛКОВ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ОСНОВАНИЙ И НУКЛЕОТИДОВ	110
<u>Речкунова Н. И.</u> , Старостенко Л. В., Лебедева Н. А., Коваль В. В., Ломзов А. А., Лаврик О. И.	
ДНК С ОБЪЕМНЫМИ ЗАМЕСТИТЕЛЯМИ КАК ИНСТРУМЕНТ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССА ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ НУКЛЕОТИДОВ	111
<u>Петрусева И. О.</u> , Лукьянчикова Н. В., Евдокимов А. Н., Лаврик О. И.	
ИЗУЧЕНИЕ КОРОТКОЖИВУЩИХ КОМПЛЕКСОВ СИСТЕМЫ РЕПАРАЦИИ МИСМАТЧЕЙ <i>E. COLI</i> С ПОМОЩЬЮ ФИКСАЦИИ БЕЛКА MUTS НА ДНК	112
<u>Монахова М. В.</u> , Рязанова А. Ю., Кубарева Е. А., Фридрихс П.	
ВЛИЯНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНОГО СПЛАЙСИНГА ПО ВТОРОМУ ЭКЗОНУ НА ДНК-ПОЛИМЕРАЗНУЮ И ДРФ-ЛИАЗНУЮ АКТИВНОСТИ ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ ЙОТА	113
Казаченко К. Ю., Миропольская Н. А., Генинг Л. В., Тарантул В. З., <u>Макарова А. В.</u>	
COMPARATIVE INVESTIGATION OF INTERACTION OF PARP-1 AND PARP-2 WITH APURINIC/APYRIMIDINIC DNA	114
<u>Kutuzov M. M.</u> , Khodyreva S. N., Ame J. C., Sukhanova M. V., Ilina E. S.	
CHEMICAL SYNTHESIS OF MONO-ADP-RIBOSYLATED PEPTIDES AND OLIGO-ADP-RIBOSE CHAINS	115
Kistemaker H. A. V., Overkleeft H. S., van der Marel G. A., <u>Filippov D. V.</u>	

СЕКЦИЯ 3. БИОМЕДИЦИНСКАЯ ХИМИЯ

IMMUNOGENICITY OF DAMAGED DNA AND PROTEINS BY ADVANCED GLYCATION END-PRODUCTS (AGES): A PROBABLE BIO-MARKER FOR THE AUTO-IMMUNE DISEASES	117
<u>Ahmad S.</u> , Khan M. S., Khan M. S., Ansari A.	
КАК ИНДУЦИРОВАТЬ НАРАБОТКУ АНТИТЕЛ ЗАДАННОЙ СТРУКТУРЫ И КАК ЭТО МОЖЕТ БЫТЬ ПОЛЕЗНО ДЛЯ СОЗДАНИЯ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИЧ	118
Таранин А. В., Баранов К. О., Волкова О. Ю., Горчаков А. А., Гусельников С. В., Кулемзин С. В., Наякшин А. М., Сократян А. М., Черникова Д. С., Чикаев Н. А.	
ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИОФАГОВ: НАСТОЯЩЕЕ ФАГОТЕРАПИИ И БУДУЩИЕ СТРАТЕГИИ	119
Власов В. В., <u>Тикунова Н. В.</u> , Морозова В. В., Козлова Ю. Н., Ганичев Д. А.	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТАГОНИСТА ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ, КОДИРУЕМОГО ВИРУСОМ НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ, ДЛЯ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СОСТОЯНИЙ	120
<u>Щелкунов С. Н.</u> , Гилева И. П., Трегубчак Т. В., Непомнящих Т. С., Максютов Р. А., Орловская И. А., Силков А. Н., Сенников С. В.	
МОДУЛЬНАЯ СИСТЕМА ЛЕНТИВИРУСНЫХ ВЕКТОРОВ ДЛЯ РАБОТЫ С ХИМЕРНЫМИ АНТИГЕННЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ	121
<u>Кулемзин С. В.</u> , Горчаков А. А., Чикаев Н. А., Кузнецова В. В., Таранин А. В.	
МЕХАНИЗМЫ ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРОВАННОЙ АГРЕГАЦИИ БЕЛКОВ ХРУСТАЛИКА	122
<u>Зеленцова Е. А.</u> , Шерин П. С., Сормачева Е. Д., Дужак Т. Г., Яньшолё В. В., Центалович Ю. П.	
BIOINSPIRED DESIGN OF AGGRESSIVE ANTIBACTERIAL AGENTS	123
Mustaev A.	
ОНКОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ДВОЙНОГО РЕКОМБИНАНТНОГО ВИРУСА ОСПОВАКЦИНЫ, КОДИРУЮЩЕГО ГЕНЫ ЛАКТАПТИНА И GM-CSF ЧЕЛОВЕКА	124
<u>Коваль О. А.</u> , Кочнева Г. В., Сиволобова Г. Ф., Троицкая О. А., Ткачева А. В., Гражданцева А. А., Кулигина Е. В., Рихтер В. А.	
STUDY OF CELL-FREE DNA METHYLATION PATTERNS BY NEXT GENERATION SEQUENCING IN SEARCH OF PROSTATE CANCER DIAGNOSTICS	125
<u>Bondar A. A.</u> , Kurilshikov A. M., Morozkin E.S., Zaripov M. M., Kabilov M. R., Voytsitskiy V. E., Vlassov V.V., Laktionov P. P.	
ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ КСИМЕДОНА	126
<u>Выштакалюк А.Б.</u> , Парфенов А.А., Гумарова Л.Ф., Зобов В.В., Назаров Н.Г., Ленина О.А., Кондрашина Д.А., Семенов В.Э., Галяметдинова И.В., Черепнев Г.В., Резник В.С.	

THERANOSTIC NANOPLATFORMS FOR SIMULTANEOUS CANCER IMAGING AND THERAPY: MULTIFUNCTIONAL NANOASSEMBLIES OF HUMAN SERUM ALBUMIN AND THERAPEUTIC NUCLEOTIDES	127
<u>Godovikova T. S., Lisitskiy V. A., Chubarov A. S., Akulov A. E., Antonova N. M., Zakharova O. D., Koptuyug I. V., Popova T. V., Kaledin V. I., Razumov I. A., Zavjalov E. L., Moshkin M. P., Silnikov V. N.</u>	
ПЕПТИДЫ АКТИНИЙ – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ЦИТОПРОТЕКТОРЫ	128
<u>Лейченко Е. В., Монастырская М. М., Зелепуга Е. А., Гладких И. Н., Исаева М. П., Синцова О. В., Кветкина А. Н., Калина Р. С., Пислягин Е. А., Юрченко Е. А., Козловский С. А., Гарбуз М. М., Аминин Д. Л., Козловская Э. П.</u>	
ПОЛИЭПИТОПНАЯ ДНК-ВАКЦИНА ПРОТИВ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: КОНСТРУИРОВАНИЕ, ДОСТАВКА В ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА И ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОГЕННОСТИ	129
<u>Назаркина Ж. К., Антоненко Д. В., Бажан С. И., Карпенко Л. И., Ильичев А. А., Лактионов П. П.</u>	
ОПУХОЛЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ПЕПТИДЫ КАК СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ RL2	130
<u>Немудрая А. А., Макарецова А. А., Коваль О. А., Рихтер В. А., Кулигина Е. В.</u>	
TISSUE ENGINEERING OF VASCULAR GRAFTS: DESIGN AND STUDY OF ELECTROSPUN PRODUCED 3D MATRICES	131
<u>Stepanova A. O., Laktionov P. P.</u>	
МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕЛЕЗЕНКЕ И ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ С МЕЛАНОМОЙ B16 ПРИ ЛЕЧЕНИИ ДАКАРБАЗИНОМ И ISPНК	132
<u>Сенькова А. В., Савин И. А., Кабилова Т. О., Черноловская Е. Л., Зенкова М. А.</u>	
ПОИСК НЕИНВАЗИВНЫХ МАРКЕРОВ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ РАКЕ ЛЕГКОГО: ДИНАМИКА МЕТИЛИРОВАНИЯ LINE-1 РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ В КРОВИ	133
<u>Пономарева А. А., Рыкова Е. Ю., Чердынцева Н. В., Бондарь А. А., Добродеев А. Ю., Завьялов А. А., Тузиков С. А., Власов В. В., Лактионов П. П.</u>	
АНАЛИЗ МЕХАНИЗМА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СОЛОКСОЛОН МЕТИЛА - ПРОИЗВОДНОГО ГЛИЦЕРРЕТОВОЙ КИСЛОТЫ	134
<u>Марков А. В., Саломатина О. В., Салахутдинов Н. Ф., Зенкова М. А., Логашенко Е. Б.</u>	
ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТИ 3D-МАТРИКСОВ С ПОМОЩЬЮ ХИМИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ И РЕНТГЕНОВСКОЙ ФОТОЭЛЕКТРОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ	135
<u>Черноносова. В. С., Степанова А. О., Квон Р. И., Лактионов П. П.</u>	

**ГУМАНИЗИРОВАННОЕ АНТИТЕЛО ПРОТИВ
ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА: ОТ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ ДО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА 136**

Тикунова Н.В., Матвеев А.Л., Байков И.К., Матвеев Л.Э., Хлусевич Я.А.,
Бондаренко Д.А., Стронин О.В., Мурашев А.Н.

**ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ
РЕКОМБИНАНТНОГО ВИРУСА ОСПОВАКЦИНЫ LIVR-GFP
В КЛЕТКАХ ЛИМФОСАРКОМЫ С ФЕНОТИПОМ
МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ 137**

Гончарова Е. П., Петров И. С., Руженкова Ю. С., Зенкова М. А.

**CHANGES IN BIOCHEMICAL AND IMMUNOLOGIC PARAMETERS,
LYMPHOCYTE PROLIFERATION, AND HEMATOPOIETIC
PROGENITOR COLONY FORMATION IN EXPERIMENTAL
AUTOIMMUNE ENCEPHALOMYELITIS MICE TREATED
WITH MYELIN OLIGODENDROCYTE GLYCOPROTEIN 138**

Nevinsky G. A., Buneva V. N. , Popova N. A., Orlovskaya I. A.

**СЕКЦИЯ 4. БЕЛКОВО-НУКЛЕИНОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ
В НАДМОЛЕКУЛЯРНЫХ КОМПЛЕКСАХ**

**SELF-ORGANIZATION OF HIGHER-ORDER
CHROMATIN DOMAINS 140**

Ulianov S. V., Khrameeva E. E., Gavrilov A. A., Flyamer I. M., Kos P.T.,
Chertovich A. T., Gelfand M. S., Shevelyov Y. Y., Razin S. V.

TELOMERE AND TELOMERASE - NEW FEATURES 141

Malyavko A., Zvereva M., Petrova O., Rodina E., Mantsizov A., Polshakov V.,
Naraykina Y., Rubtsova M., Dontsova O.

**НЕКАНОНИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ ГЛАВНОЙ И
АЛЬТЕРНАТИВНЫХ СИГМА-СУБЪЕДИНИЦ
БАКТЕРИАЛЬНОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ
В ТРАНСКРИПЦИИ 142**

Пупов Д. В., Петушков И. В., Есюнина Д. М., Кульбачинский А. В.

**МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ НАПРЯЖЁННОГО
КОМПЛЕКСА РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ НА ПРОМОТОРЕ И
ПРИ ОБРАЗОВАНИИ СИГМА-ЗАВИСИМЫХ ПАУЗ
ТРАНСКРИПЦИИ 143**

Петушков И. В., Кульбачинский А. В.

**КАК КЛЕТОЧНЫЙ БЕЛОК KU ПОМОГАЕТ
РЕПЛИКАЦИИ ВИЧ-1 144**

Готтих М. Б.

**ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕТЕРОДИМЕРНОЙ
ЭНДОНУКЛЕАЗЫ РЕСТРИКЦИИ BSRD61
С МОДИФИЦИРОВАННЫМИ ФРАГМЕНТАМИ ДНК 145**

Абросимова Л. А., Гавшина А. В., Кубарева Е. А., Железная Л. А.,
Орецкая Т. С.

СНИЖЕНИЕ ТРАНСМЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА МИТОХОНДРИЙ ИНДУЦИРУЕТ МИТОФАГИЮ И ПРЕПЯТСТВУЕТ ЭКСПАНСИИ ЭГОИСТИЧНОЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В ЗИГОТАХ ДРОЖЖЕЙ	
<i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i>	146
Караваева Ю. Е., Голышев С. А., Соколов С. С., Смирнова Е. А., Северин Ф. Ф., Кнорре Д. А.	
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫЙ ИНТЕРПРЕТАТОР ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ	147
<u>Шлихт А. Г.</u> , Краморенко Н. В.	
GENETIC CODE REPROGRAMMING. THE CASE OF THE UGA-ENCODED SELENOCYSTEINE	148
Kossinova O., Malygin A., Hashem Y., <u>Krol A.</u> , Karpova G.	
PECULIARITIES OF TRANSLATION INITIATION IN MAMMALS RELATED TO INTERPLAY OF RIBOSOMAL PROTEIN US3, INITIATION FACTOR EIF3J AND MRNA	149
<u>Graifer D. M.</u> , Sharifulin D. E., Bartuli Y. S., Meschaninova M. I., Ven'yaminova A. G., Karpova G. G.	
INVOLVEMENT OF HUMAN RIBOSOMAL PROTEIN ES1 IN THE U11 SNRNA BIOGENESIS	150
<u>Gopanenko A. V.</u> , Malygin A. A., Tupikin A. E., Laktionov P. P., Kabilov M. R., Karpova G. G.	
БЕЛКИ УВ-1 И NSUN2 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ УЧАСТНИКИ ПРОЦЕССА СОРТИНГА МРНК В ЭКЗОСОМЫ	151
<u>Малыгин А. А.</u> , Косинова О. А., Гопаненко А. В., Яньшина Д. Д., Тамкович С. Н., Крашенинина О. А., Тупикин А. Е., Киселёва Е. В., Венъяминова А. Г., Кабилов М. Р., Карпова Г. Г.	
INTERACTION OF ISOLATED AND 40S SUBUNIT-BOUND HUMAN RIBOSOMAL PROTEIN US3 WITH ABASIC SITES IN DNA	152
<u>Grosheva A. S.</u> , Zharkov D. O., Stahl J., Graifer D. M., Karpova G. G.	
АНАЛИЗ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЭКЗОСОМ КРОВИ В НОРМЕ И ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	153
<u>Тутанов О. С.</u> , Сомов А. К., Тамкович С. Н., Бакакина Ю. С., Дубовская Л. В., Юнусова Н. В., Волотовский И. Д., Кирюшина Н. А., Войцицкий В. Е., Лактионов П. П.	
ИДЕНТИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ, ОПОСРЕДУЮЩИХ ТРАНСПОРТ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ДНК В КРОВОТОКЕ	154
Тутанов О. С., <u>Тамкович С. Н.</u> , Шлихт А. Г., Беленикин М. С., Кирюшина Н. А., Сердюков Д. С., Войцицкий В. Е., Центалович Ю. П., Лактионов П. П.	
ФАКТОР МОЛОКА ЧЕЛОВЕКА, СТИМУЛИРУЮЩИЙ ОБМЕН ИММУНОГЛОБУЛИНОВ НЛ-ФРАГМЕНТАМИ	155
<u>Седых С. Е.</u> , Принц В. В., Бунева В. Н., Невинский Г. А.	
КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В БЕЛКОВОМ ПРОФИЛЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ БИПОЛЯРНЫМ РАССТРОЙСТВОМ И ШИЗОФРЕНИЕЙ	156
<u>Черноносков А. А.</u> , Алексеева И. В., Тимофеева Н. А., Иванова С. А., Симуткин Г. Г., Федорова О. С.	

IN VITRO SELECTION OF CELL-INTERNALIZING 2'-MODIFIED RNA APTAMERS AGAINST P. AERUGINOSA	157
<u>Davydova A. S.</u> , Vorobyeva M. A., Kabilov M. R., Tikunova N. V., Pyshnyi D. V., Venyaminova A. G.	
СОВРЕМЕННЫЕ РЕШЕНИЯ ДЛЯ АНАЛИЗА КОНЦЕНТРАЦИИ И ЧИСТОТЫ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ С ПОМОЩЬЮ УФ/ВИД СПЕКТРОМЕТРИИ	158
<u>Шайхлисламова А.Р.</u> , Сенечко А.Я.	
RNA APTAMERS AGAINST AUTOANTIBODIES ASSOCIATED WITH MULTIPLE SCLEROSIS: SELECTION, DESIGN AND PROSPECTS OF APPLICATION	159
<u>Vorobyeva M. A.</u> , Timoshenko V. V., Krasitskaya V. V., Kabilov M. R., Nevinsky G. A., Frank L. A., Venyaminova A. G.	

YOUNG SCIENTIST SESSION

REGULATORY RNAS OF HUMAN BLOOD EXTRACELLULAR STRUCTURES	161
<u>Savelyeva A. V.</u> , Kuligina E. V., Morozov V. V., Richter V. A., Semenov D. V.	
SEARCH FOR AN OPTIMAL OLIGONUCLEOTIDE FOR SELECTIVE TARGETING TO MATURE MIRNA	162
<u>Miroshnichenko S. K.</u> , Patutina O. A., Mironova N. L., Lomzov A. A., Zenkova M. A.	
MOLECULAR MECHANISMS OF ANTIPROLIFERATIVE AND INTERFERON-INDUCING ACTIVITY OF SHORT IMMUNOSTIMULATING RNA	163
<u>Zhorov M. I.</u> , Kabilova T. O., Vlassov V. V., Zenkova M. A., Chernolovskaya E. L.	
МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ Y-ВОХ-СВЯЗЫВАЮЩИЙ БЕЛОК 1 КАК НЕКАНОНИЧЕСКИЙ ФАКТОР РЕПАРАЦИИ ДНК	164
<u>Алемасова Е. Э.</u> , Пестряков П. Е., Науменко К. Н., Моор Н. А., Лаврик О. И.	
KU-АНТИГЕН ПРОЯВЛЯЕТ АР-ЛИАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ НА ОПРЕДЕЛЕННОМ ТИПЕ ДВУХЦЕПОЧНОЙ ДНК	165
<u>Косова А. А.</u> , Ходырева С. Н., Лаврик О. И.	
УЗНАВАНИЕ ПОВРЕЖДЕННЫХ ОСНОВАНИЙ ДНК 8-ОКСОГУАНИН-ДНК-ГЛИКОЗИЛАЗАМИ РАЗНЫХ СТРУКТУРНЫХ СУПЕРСЕМЕЙСТВ	166
<u>Ендуткин А. В.</u> , Симмерлинг К., Жарков Д. О.	
РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ НОВЫХ МЕТОДОВ УЛУЧШЕНИЯ КАЧЕСТВА ДЕГРАДИРОВАННЫХ ДНК-МАТРИЦ ПЕРЕД ПЦР-АМПЛИФИКАЦИЕЙ	167
<u>Дворникова А. П.</u> , Жарков Д. О.	
ВЛИЯНИЕ ПРИРОДЫ ОСНОВАНИЯ, РАСПОЛОЖЕННОГО НАПРОТИВ ПОВРЕЖДЕНИЯ, НА АКТИВНОСТЬ ПРО- И ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ АР-ЭНДОНУКЛЕАЗ	168
<u>Мирошникова А. Д.</u> , Кузнецов Н. А., Федорова О. С.	
ВЛИЯНИЕ АР-ЭНДОНУКЛЕАЗЫ ARE1 НА АКТИВНОСТЬ ДНК-ГЛИКОЗИЛАЗ MBD4 И TDG В ПРОЦЕССЕ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ОСНОВАНИЙ	169
<u>Яковлев Д. А.</u> , Кладова О. А., Кузнецов Н. А., Федорова О. С.	

DNA DAMAGE PROCESSING BY HUMAN 8-OXOGUANINE-DNA GLYCOSYLASE MUTANTS: STOPPED-FLOW FRET STUDY	170
<u>Lukina M. V.</u> , Kuznetsov N. A., Zharkov D. O., Fedorova O. S.	
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ С ДНК-БЕЛКОВЫМИ СШИВКАМИ И БЕЛКАМИ, ПРОЧНО СВЯЗАННЫМИ С ДНК	171
<u>Юдкина А. В.</u> , Жарков Д. О.	
РОЛЬ АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ G42, R154, Y203, R204, K249 И D268 В УЗНАВАНИИ ПОВРЕЖДЕННОЙ ДНК	
8-ОКСОГУАНИН-ДНК-ГЛИКОЗИЛАЗОЙ ЧЕЛОВЕКА HOGG1	172
<u>Тюгашев Т. Е.</u> , Кузнецов Н. А., Воробьев Ю. Н., Федорова О. С.	
PLASMA MIRNAS AS BIOMARKERS OF LUNG CANCER	173
<u>Zaporozhchenko I. A.</u> , Morozkin E. S., Skvortsova T. E., Rykova E. Y., Ponomaryova A. A., Cherdyntseva N. V., Vlassov V. V., Laktionov P. P.	
NEW OLIGONUCLEOTIDE DERIVATIVES WITH INTERNUCLEOTIDE N-TOSYL PHOSPHORAMIDATE GROUPS: SYNTHESIS AND SOME PROPERTIES	174
<u>Prokhorova D. V.</u> , Apukhtina V. S., Chelobanov B. P., Stetsenko D. A.	
МОДЕЛЬНЫЕ ДНК, СОДЕРЖАЩИЕ ОБЪЕМНЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ, И ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С БЕЛКАМИ СИСТЕМЫ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ НУКЛЕОТИДОВ	175
<u>Лукьянчикова Н. В.</u> , Петрусева И. О., Лаврик О. И.	
INHIBITION OF INVASIVE PROPERTIES OF MURINE MELANOMA BY BOVINE PANCREATIC DNASE I IN VITRO AND IN VIVO	176
<u>Alexeeva L. A.</u> , Patutina O. A., Sen'kova A. V., Zenkova M. A., Mironova N. L.	

ПОСТЕРЫ

БЕЛКОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ МОЛОКА ЧЕЛОВЕКА	178
<u>Соболева С. Е.</u> , Добролюбова Ю. О., Невинский Г. А.	
МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЕЗИКУЛ ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА	179
<u>Буркова Е. Е.</u> , Невинский Г. А.	
САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКИЙ ГИДРОЛИЗ ГИСТОНА H1 АНТИТЕЛАМИ КРОВИ	
ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ	180
<u>Баранова С. В.</u> , Дмитренко П. С., Невинский Г. А.	
ИССЛЕДОВАНИЕ КОНФОРМАЦИЙ ДНК-ДУПЛЕКСА, МЕЧЕННОГО ТРИАРИЛМЕТИЛЬНЫМИ РАДИКАЛАМИ	181
<u>Кадцын Е. Д.</u> , Аникеев А. В., Медведев Н. Н.	
СИНТЕЗ 5-(ПЕРИЛЕН-3-ИЛЭТИНИЛ)УРАЦИЛ УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ И ЕЁ АМИДОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОТИВ ОБОЛОЧЕЧНЫХ ВИРУСОВ	182
<u>Стрешнев Ф. П.</u> , Чистов А. А., Апарин И. О., Сапожникова К. А., Орлов А. А., Коршун В. А., Козловская Л. И., Осолодкин Д. И., Бриджеш Ратхи, Нидхи Джайн, <u>Брылёв В. А.</u>	

МОДИФИКАЦИЯ ПО 3'-ГИДРОКСИЛЬНОЙ ГРУППЕ ПРОТИВОВИРУСНОГО НУКЛЕОЗИДА DUU11 ДЛЯ МОДУЛИРОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ	183
<u>Проскурин Г. В., Брылёв В. А., Орлов А. А., Чистов А. А., Коршун В. А., Козловская Л. И., Осолодкин Д. И., Аралов А. В.</u>	
TASSE: НОВЫЙ ПОДХОД К РЕАЛИЗАЦИИ МОЛЕКУЛЯРНО-КОНТИНУАЛЬНОЙ МОДЕЛИ РАСТВОРИТЕЛЯ ПРИ КОМПЬЮТЕРНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ	184
<u>Попов А. В., Воробьёв Ю. Н., Жарков Д. О.</u>	
ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБИОТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА ИНА-5812	185
<u>Алфёрова В. А., Топольян А. П., Куляева В. В., Рогожин Е. А., Прохоренко И. А., Брылёв В. А., Шенкарёв З. О., Кудан П. В., Шувалов М. В., Слюндина М. С., Королёв А. М., Катруха Г. С., Гладких Е. Г., Лапчинская О. А., <u>Тюрин А. П.</u></u>	
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА МОДЕЛЬНЫЕ ЛИПИДНЫЕ МЕМБРАНЫ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ	186
<u>Шелепова Е. А., Ким А. В., Медведев Н. Н.</u>	
ОЦЕНКА ПЕРСПЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДИК ОБРАБОТКИ ИК-СПЕКТРОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ ПРИ НАЛИЧИИ МАЛОГО КОЛИЧЕСТВА ДАННЫХ	187
<u>Носенко Т. Н., Плотникова Л. В., Поляничко А. М., Гарифуллин А. Д., Волошин С. В., Успенская М. В.</u>	
НОВЫЕ ПРОТИВОВИРУСНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ С ТРИАЗОЛЬНЫМ ЛИНКЕРОМ	188
<u>Проскурин Г. В., Орлов А. А., Чистов А. А., Кутяков С. В., Коршун В. А., Осолодкин Д. И., <u>Аралов А. В.</u></u>	
СИНТЕЗ ПОЛИАНИОННЫХ ПЕПТИДО-НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ НА ОСНОВЕ L-GLU ПО МОДИФИЦИРОВАННОМУ ВОС-ПРОТОКОЛУ	189
<u>Кириллова Ю. Г., Танкевич М. В., Деженков А. В., Варижук А. М., Смирнов И. П., Позмогова Г. Е.</u>	
НОВЫЕ АНАЛОГИ G-SLAMP МОДИФИКАЦИИ С 2-АМИНОЭТОКСИ ИЛИ 2-ГУАНИДИНОЭТОКСИ ЛИНКЕРОМ В МЕТА-ПОЛОЖЕНИИ ФЕНОКСАЗИНОВОГО КОЛЬЦА	190
<u>Зацепин Т. С., Шпаковский Г. В., <u>Аралов А. В.</u></u>	
DESIGN AND EVALUATION DUAL-LABELED MOLECULAR PROBES BASED ON HUMAN SERUM ALBUMIN	191
<u>Antonova N. M., Chubarov A. S., Akulov A. E., Zakharova O. D., Koptuyug I. V., Razumov I. A., Zavjalov E. L., Moshkin M. P., Silnikov V. N., Godovikova T. S.</u>	
A UNIVERSAL APPROACH TO 2'-FUNCTIONALIZATION OF RNA	192
<u>Krasheninina O. A., Novopashina D. S., Venyaminova A.</u>	
ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКИЕ И ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КОМПЛЕКСА ИБУПРОФЕНА С	

ПОЛИСАХАРИДОМ ЛИСТВЕННИЦЫ АРАБИНОГАЛАКТАНОМ	193
<u>Борисов С. А.</u> , Хвостов М. В., Толстикова Т. Г., Душкин А. В.	
СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ УЗНАВАНИЯ АР-САЙТОВ В ДНК АР-ЭНДОНУКЛЕАЗОЙ ЗАРЕ ИЗ <i>DANIO RERIO</i>	194
<u>Бабищев К. А.</u> , Ломзов А. А., <u>Коваль В. В.</u>	
ИЗМЕРЕНИЕ СИЛЫ РАЗРЫВА МОЛЕКУЛЫ ДНК МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ СПЕКТРОСКОПИИ	195
<u>Курусь Н. Н.</u> , Дульцев Ф. Н., Шевелев Г. Ю., Ломзов А. А., Пышный Д. В.	
РЕАГЕНТ ДЛЯ КОНТРОЛИРУЕМОГО СИНТЕЗА КОВАЛЕНТНЫХ КОНЬЮГАТОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ И ДНК	196
<u>Апарин И. О.</u> , Берлина Я. Ю., Скоблов Ю. С., Скоблов М. Ю., Власик Т. Н., Коршун В. А., Формановский А. А. <u>Прохоренко И. А.</u>	
СИНТЕЗ НОВЫХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ ИЗ 2-ЗАМЕЩЕННЫХ АНИЛИНОВ И ПРИРОДНЫХ КАРКАСНЫХ КЕТОНОВ	197
<u>Чернышов В. В.</u> , Яровая О. И., Салахутдинов Н. Ф.	
ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФОСФОРИЛГУАНИДИНОВЫХ ОЛИГО-2'-О-МЕТИЛРИБО- НУКЛЕОТИДОВ В ОТНОШЕНИИ <i>PROTEUS MIRABILIS</i>	198
<u>Апухтина В. С.</u> , Хлусевич Я. А., Матвеев А. Л., Челобанов Б. П., Стеценко Д. А., Тикунова Н. В.	
РАСЧЕТ КОНСТАНТ ИОНИЗАЦИИ РК И СОДЕРЖАНИЯ ТРЕХ ФОРМ ОСТАТКОВ ГИСТИВИНА В БЕЛКАХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ PH РАСТВОРА	199
<u>Воробьев Ю. Н.</u>	
НОВЫЕ КОМПЬЮТЕРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ ДЛЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ ГИБРИДИЗАЦИОННЫХ СВОЙСТВ ПРОИЗВОДНЫХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ	200
<u>Голышев В. М.</u> , Ломзов А. А., Абрамова Т. В., Пышный Д. В.	
ПРОЦЕССИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ОСНОВАНИЙ	201
<u>Дятлова Е. А.</u> , Мечетин Г. В., Жарков Д. О.	
ВЛИЯНИЕ НЕКАНОНИЧЕСКИХ НУКЛЕОТИДОВ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АНАЛОГОВ МАЛЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА	202
<u>Журавлев Е. С.</u> , Степанов Г. А., Шендер В. О., Нуштаева А. А., Касакин М. Ф., Кулигина Е. В., Рихтер В. А., Семенов Д. В.	
СИСТЕМНАЯ ДОСТАВКА ОПУХОЛЕВОЙ РНК В КОМПЛЕКСЕ С МАННОЗИЛИРОВАННЫМИ ЛИПОСОМАМИ АКТИВИРУЕТ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ЦИТОТОКСИЧЕСКИЙ Т-КЛЕТОЧНЫЙ ОТВЕТ НА МОДЕЛИ МЕЛАНОМЫ МЫШИ	203
<u>Марков О. В.</u> , Миронова Н. Л., Шмендель Е. В., Маслов М. А., Зенкова М. А.	

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНОЙ МС-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ДНК-ГЛИКОЗИЛАЗЫ ROS1 В ОТНОШЕНИИ СУБСТРАТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ КОМБИНАЦИЯМИ 5-МЕТИЛЦИТОЗИНА И 5-ГИДРОКСИМЕТИЛЦИТОЗИНА	204
<u>Петрова Д. В.</u> , Грин И. Р., Жарков Д. О.	

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ	205
----------------------------	------------

СПИСОК УЧАСТНИКОВ	209
--------------------------	------------

ТЕЗИСЫ ОТКРЫТИЯ КОНФЕРЕНЦИИ

«МАГИЧЕСКАЯ ПУЛЯ» И ПРОБЛЕМЫ КОМБИНАТОРНОЙ СЕЛЕКЦИИ В БИОФАРМАЦЕВТИКИ

Габибов А. Г.

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

Проблемы направленной доставки лекарственных препаратов находится в центре внимания исследователей с конца XIX столетия. Концепция «Магической пули» Пауля Эрлиха, заключающаяся в создании лекарственных препаратов направленного действия крайне актуальна сегодня. Современные методы комбинаторной химии и биологии позволяют проводить селекцию необходимых лекарственных соединений путем скрининга высокорепрезентативных библиотек, содержащих закодированные последовательности белков.

Нами разработан принцип селекции функциональных белков, основанный на сортировке биомолекул, заключенных в стандартные эмульсионные биоконтейнеры. Продемонстрированы возможности селекции биокатализаторов и клеток. Предложенный метод позволил наиболее эффективно решить проблему генотип-фенотип. Предложен метод двумерного скрининга- библиотеки генов иммуноглобулинов против библиотеки химических соединений, пептидов и пептоидов. Идентифицированы наиболее эффективные биокатализаторы на основе антител. Предложена концепция виртуального скрининга мутантов с помощью суперкомпьютеров. Получены эффективны антитоды к фосфорорганическим соединениям. Методами рентгено-структурного анализа и предстационарной кинетики установлены функциональные взаимоотношения селектированных биокатализаторов, потенциальных терапевтических препаратов.

**СОЦИАЛЬНО ЗНАЧИМЫЕ ИНФЕКЦИИ:
ИССЛЕДОВАНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ
И ПОИСК НОВЫХ БЛОКАТОРОВ**

Кочетков С. Н.

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

Смертность от инфекционных заболеваний достигает примерно трети от мировой смертности (15 млн чел.), причем примерно половина из них – вирусные заболевания. Несмотря на огромный прогресс, достигнутый за последние годы, разработка новых лекарственных препаратов против социально значимых инфекций, таких как ВИЧ-инфекция, вирусные гепатиты, герпетические инфекции, а также туберкулез, по-прежнему остается весьма актуальной проблемой.

Настоящее сообщение является своеобразным отчетом о работе, выполненной в Лаборатории молекулярных основ действия физиологически активных соединений ИМБ РАН за последние пять лет. Будут обсуждены результаты, полученные в изучении влияния вирусных инфекций на метаболизм клетки хозяина, поиск клеточных компонентов, способных служить мишенями новых противовирусных и антибактериальных препаратов, а также создание и исследования действия таких препаратов.

Исследования были поддержаны грантами РНФ 14-50-0060 и 14-14-01021, Минобрнауки 14.616.21.0043, РФФИ 12-04-91450 НИЗ_а и 13-04-91441 НИЗ_а, и Программой «Молекулярная и клеточная биология» Президиума РАН

ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ РЕГУЛЯТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА КЛЕТОЧНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ

Мясоедов Н. Ф., Лимборская С. А.

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

Лекарственные пептидные препараты имеют значительные перспективы в лечении заболеваний, поскольку обладают регулирующим и модулирующим воздействием на физиологические процессы организма в норме и при патологии. Однако до сих пор остаются неясными детальные механизмы их влияния на работу различных метаболических путей клетки. Такого рода знания крайне важны для дальнейших разработок новых препаратов с заранее определенными (заданными) функциональными свойствами. С развитием новых геномных и постгеномных технологий появляется возможность на молекулярном уровне изучать влияние пептидных препаратов на клеточные процессы, которые они контролируют и запускают.

В докладе будут представлены результаты полно-транскриптомного анализа действия лекарственных пептидов на экспрессию генов в норме и при некоторых патологических состояниях. Очевидно, что изменение работы генов существенно сказывается на метаболических путях, в которых участвуют белковые продукты данных генов. С помощью имеющихся биоинформатических подходов удалось определить на какие метаболические пути и биологические процессы воздействуют пептидные препараты и выявить особенности перестройки метаболизма под их воздействием.

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕДИАТОРЫ ИММУНИТЕТА,
ИХ РОЛЬ В ЗАБОЛЕВАНИЯХ И НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ТЕРАПИИ**

Недоспасов С. А.

*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгарда РАН, Москва, Россия
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
Нижегородский государственный университет им. Н.Н. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия*

Случайная структура и огромный репертуар рецепторов адаптивного иммунитета у высших позвоночных допускают принципиальную возможность аутоагрессии. Ее не происходит, если правильно работают контрольные механизмы, такие как негативная селекция. Поскольку многие аспекты функционирования иммунной системы индивидуальны, универсальные подходы к терапии аутоиммунных заболеваний тоже имеют принципиальные ограничения. В настоящее время мишенями терапии являются некоторые цитокины – регуляторы иммунной системы.

Наша лаборатория в течение многих лет применяет модельные организмы и технологии обратной генетики для изучения физиологических функций цитокинов, как в норме, так и при некоторых аутоиммунных заболеваниях. Эти исследования привели к новой концепции терапии, которая в настоящее время опробуется на гуманизированных мышах.

Поддержано грантами Российского научного фонда 14-50-00060 и Министерства образования и науки 14.Z50.31.0008

International Research Workshop
"Targeting the RNA world"
Session 1
Chemistry and design of functionality

STAUDINGER REACTION REVISITED: OLD DOG TAUGHT NEW TRICKS

Chelobanov B. P.^{1,2}, Apukhtina V. S.^{1,2}, Prokhorova D. V.², Zakhryamina A. E.²,
Burakova E. A.¹, Vasilyeva S. V.¹, Fokina A. A.¹, Stetsenko D. A.^{1,2}

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

Staudinger reaction belongs firmly in the hall of fame of organic synthesis [1]. Discovered nearly 97 years ago by Hermann Staudinger, the future (1953) Nobel prize winner, the reaction occurs between phosphorus(III) compounds and organic azides to produce iminophosphoranes in the first instance, which may then undergo a number of further transformations.

Into nucleic acid chemistry Staudinger reaction was introduced by Robert L. Letsinger – the father of phosphite triester oligonucleotide synthesis. His first synthesis of internucleotidic phosphoramidate from dinucleoside phosphite and an aliphatic azide goes back 35 years [2]. However, since then, apart from a single note by Marvin H. Caruthers [3], Staudinger reaction as a way to obtain oligonucleotide phosphate analogues has been put on hold for the next two decades until a group of researchers has published their brief account of the synthesis of oligodeoxyribonucleotides with internucleotidic N-sulfonyl phosphoramidate groups [4]. Apart from these occasional insights, synthetic potential of Staudinger remained largely untapped.

We have become interested in the application of Staudinger reaction for the synthesis of oligonucleotides modified at the internucleotidic position. In this report, we demonstrate that a number of oligonucleotide derivatives with unusual internucleotidic groups built around the P-N bond, are obtainable, some of them for the first time, via Staudinger reaction on solid phase between 3',5'-dinucleoside-2-cyanoethyl phosphite and electrophilic azides. This is illustrated by examples of oligonucleotides containing phosphoryl guanidine [5], phosphoryl amidine, phosphoryl phosphazene (N-(phosphoranylidene)phosphoramidate), N-sulfonyl phosphoramidate, N-phosphoryl phosphoramidate, N-acyl phosphoramidate, N-alkoxycarbonyl phosphoramidate, N-phosphoryl urea and N-cyano phosphoramidate groups as well as aliphatic phosphoramidates. Thus, the scope of Staudinger reaction in nucleic acid chemistry has expanded significantly.

1. Staudinger H., Meyer J., *Helv. Chim. Acta.*, 1919, 2, 635-646.

2. Letsinger R. L., Schott M. E., *J. Am. Chem. Soc.*, 1981, 103, 7394-7396.

3. Nielsen, J.; Caruthers, M. H., *J. Am. Chem. Soc.* 1988, 110, 6275-6276.

4. Heindl D., Kessler D., Schube A. et al., *Nucleic Acids Symp. Ser.*, 2008, 52, 405-406.

5. Stetsenko D., Kupryushkin M., Pyshnyi D., patent application WO2016/028187A1, priority from 22.08.2014.

This work was funded by RFBR grants №№ 15-03-06331, 15-29-01334, 15-54-10049 and 16-03-01055

Oligonucleotide syntheses were supported by RSF grants №№ 14-44-00068 and 15-15-00121

PERYLENE DERIVATIVES OF NUCLEOSIDES: SYNTHESIS AND ANTIVIRAL PROPERTIES

Chistov A. A.¹, Proskurin G. V.¹, Orlov A. A.^{2,3}, Aralov A. V.¹, Brylev V. A.¹, Tyurin A. P.^{1,4}, Prokhorenko I. A.^{1,4}, Kutyaikov S. V.¹, Aparin I. O.¹, Ivanov N. M.^{1,5}, Ulashchik E. A.⁵, Streshnev F. P.^{1,6}, Sapozhnikova K. A.¹, Korelskaya K. S.^{1,7}, Myasoutova A. A.^{1,7}, Shmanai V. V.⁵, Ustinov A. V.¹, Osolodkin D. I.^{2,3}, Korshun V. A.¹

¹*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russia*

²*Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitides, Moscow, Russia*

³*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

⁴*Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia*

⁵*Institute of Physico-Organic Chemistry NAS, Minsk, Belarus*

⁶*Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Russia*

⁷*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

Peryleneethynyl derivatives of uracil nucleosides are broad-spectrum antivirals. The lead compound – 5-(perylene-3-ylethynyl)-arabino-uridine – efficiently inhibits replication of enveloped viruses: herpes simplex, hepatitis C, influenza A [1,2], and tick-borne encephalitis [3]. Recently, we developed convenient procedures for preparation of ethynylperylene [4] used in the synthesis of this type of antiviral compounds. For structure–activity studies, a number of perylene nucleoside analogues were prepared: these are varied in the linker, heterocyclic base, sugar (or pseudosugar) part of nucleoside, and in perylene substitution position. Polyazide linkers [5] developed by us were used in the synthesis of cluster structures carrying up to four pharmacophore residues. Structural prerequisites of antiviral action are revealed on the basis of structure–inhibition ability correlations. The target for these compounds is the viral lipid envelope. There are evidences for twofold mechanism of their antiviral action: the activity is determined both by the geometrical shape and the photophysical properties of the molecule.

1. St.Vincent M.R. et al. Rigid amphipathic fusion inhibitors, small molecule antiviral compounds against enveloped viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107 (40), 17339–17344 (2010);

2. Colpitts C.C. et al. 5-(Perylene-3-yl)ethynyl-arabino-uridine (aUY11), an arabino-based rigid amphipathic fusion inhibitor, targets virion envelope lipids to inhibit fusion of influenza virus, hepatitis C virus, and other enveloped viruses. *J. Virol.*, 87 (7), 3640–3654 (2013).

3. Orlov A.A. et al. Rigid amphipathic nucleosides suppress reproduction of the tick-borne encephalitis virus. *Med. Chem. Commun.*, 7 (3), 495–499 (2016).

4. Chistov A.A. et al. 2-Ethynylperylene and improved synthesis of 3-ethynylperylene. *Tetrahedron Lett.*, 57 (9), 1003–1006 (2016).

5. Ponomarenko A.I. et al. Tetrahedral DNA conjugates from pentaerythritol-based polyazides. *Tetrahedron*, 72 (19), 2386–2391 (2016).

The research was supported by Russian Science Foundation (project 15-15-00053)

SIMPLE APPROACH TO THE SYNTHESIS OF OLIGONUCLEOTIDE CONJUGATES WITH BIODEGRADABLE LINKERS

Meschaninova M. I., Mozhaytsev E. S., Permyakova E. S., Dovydenko I. S.,
Veniaminova A. G.

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

Functional nucleic acids (catalytic NA, aptamers, small interfering RNA, antisense oligonucleotides, etc.) and constructs on their basis are now of huge interest as highly selective molecular biology tools and promising therapeutic agents for a treatment of viral, oncological and other diseases.

Among the approaches to addressed delivery of NA into target cells, a special mention should go to the creation of multi-functional constructs based on complexes of NA and their conjugates with different nanoparticles and small molecules. As components of such constructs, there could be used 5'-lipophilic conjugates of functional NA conjugates containing linkers that are labile in cell compartments. The use of biodegradable linkages allows releasing of oligonucleotide from the transporter inside the cell, thus potentiating its biological activity.

We developed solid-phase approaches to the design of oligonucleotide conjugates containing labile azomethine and disulfide linkages. The feasibility of these approaches were demonstrated by the example of solid-phase synthesis of 5'-cholesterol and 5'- α -tocopherol conjugates of model oligonucleotides and of anti-MDR1 siRNA sense strand that represents a mixmer oligo(2'-O-methyl/ribonucleotide). We have shown in model experiments that disulfide linkers within the conjugates are cleaved in the presence of glutathione, while the linkers containing azomethine bond are hydrolyzed in mild acidic conditions corresponding to intra-endosomal pH level.

The given approach could be used for the synthesis of conjugates of functional DNA, RNA and their analogues with groups of different nature. We suppose that the designed functional NA conjugates would be advantageous components of delivery vehicles.

The work is supported by RSF grant No. 14-14-00697

DESIGN OF MULTIFUNCTIONAL BIOCOMPATIBLE STRUCTURES BASED ON GOLD NANOPARTICLES

Pyshnaya I. A., Shashkova V. V., Epanchintseva A. V., Vorobjev P. E., Razum K. V.,
Ryabchikova E. I., Pyshnyi D. V.

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

The development of nanodevices for efficient transport of therapeutic molecules is one of the most urgent problems of modern molecular medicine. Noncovalent agents for delivery of nucleic acids (NA), including those based on gold nanoparticles (GNPs) represent an attractive alternative to covalent systems, since in this case it is easier to provide controlled release of NA. We demonstrate the ability to create potentially biocompatible associates of GNPs, containing alternating layers of oligonucleotides and other polymers, as a promising platform for the delivery of oligonucleotides into living cell.

We show the possibility of assembling multilayer (5 layers) coated GNPs by sequential treatment of gold nanoparticles by non-thiolated oligonucleotide (ON), thiolated carboxy-polyethylene glycol (SH-PEG3000-COOH), and linear polyethyleneimine (PEI).

We developed an algorithm for the analysis of multilayer coated GNPs by gel electrophoresis, photon correlation spectroscopy, and transmission electron microscopy. The assembly of associates, bearing up to two oligonucleotide layers and having net positive charge surface is described. Multilayer coated GNPs are shown not to degrade in the presence of high concentration of major blood protein, serum albumin.

This study was supported by RCF 16-15-10156

RATIONAL APPROACHES TO CREATING FUNCTIONAL OLIGONUCLEOTIDES

Pyshnyi D. V.

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

Oligonucleotides and their derivatives are very important tools for modern molecular diagnostics and considered as promising biologically active agents. Demand for oligonucleotides with different functionality is permanently growing up. It is irrational now to synthesise and thereafter check functional properties of any desired oligonucleotide's based constructions. Thus, the modernity requires the development of approaches on the basis of both composition of prognostic computational methods and convenient synthetic capability. There are two main ways for preliminary evaluation of functional properties of desired construction. The first is the development of empirical or semiempirical (model depended) algorithms for prediction of quantitative characteristics of desired derivatives or constructs. Realisation of this way has some limitations since it requires synthesis and detailed characterisation of representative pool of specially designed samples. The second way is based on real computational technique that is molecular modelling, for example, molecular dynamic simulations. Molecular dynamics is very prospective approach to analysing properties of molecules even for those new ones which have never been synthesised before. However, it is necessary to create computational algorithms specifically optimized for nucleic acids.

We have undertaken a number of efforts to develop a comprehensive approach to the rational design and characterization of the properties of oligonucleotide derivatives. First of all, different convenient approaches to synthesis of modified oligonucleotides have been developed. We are capable to prepare derivatives bearing functional group(s) both in terminal and internal positions of oligonucleotide chains. These approaches allow us to design constructions with wide spectrum of functionalities quite easily. These compounds can be used as very promising tools for molecular diagnostics or structural analysis of nucleic acids' complexes and gene-directed therapeutics agents. At the same time, various derivatives could be successfully used as a "training set" for development of semiempirical and computational approaches for further prognostic evaluations.

Our preliminary results obtained by EPR, structural NMR and thermodynamic analysis confirm the possibility of this development.

This study was supported by RFBR 16-04-01029

SYNTHESIS OF FUNCTIONALIZED OLIGONUCLEOTIDES USING NON-NUCLEOSIDIC AMIDITES WITH UNIFIED STRUCTURE

Kupryushkin M. S., Nekrasov M. D., Shevelev G. Y., Filatov A. V., Pyshnyi D. V.

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

Modified oligonucleotides are widely used as molecular tools for current research in life sciences and molecular diagnostics. The automated DNA synthesis is a universal method of oligonucleotides preparation. The majority of modifications can be routinely introduced in to DNA sequences during synthesis using non-nucleotide phosphoramidite monomers bearing necessary functional groups. Although preparation of this synthons is individual and labor-consuming task in some cases. Thus development of universal methods for preparation of non-nucleotide synthons with required properties presents an actual challenge.

We combined two previously published helpful techniques of application lactone moieties and activated oxalate chemistry in creation variety of phosphoramidite monomers to develop a novel strategy for obtaining achiral non-nucleotide phosphoramidite monomers with desired functional groups. Our method involves individual syntheses of building blocks with distinct functions: a "Universal" block responsible for incorporation into DNA, and "Functional" block, bearing oligonucleotide modifier's residue(s). The "Universal" block is common reagent for various synthons preparation and allows to obtain sets of non-nucleotide monomers with the same backbone but carrying different functional group(s). The structure of "Functional" block is defined by desired oligonucleotide modifier group(s) - it has to be an appropriate aliphatic amine bearing required group(s). Conjugation of blocks is performed immediately before final phosphitilation step, yields for non-nucleotide achiral phosphoramidite synthon. Thus if "Functional" block is commercially available amine, than whole synthesis comes down to only two steps: conjugation and phosphitilation.

We synthesized number of non-nucleoside synthons using different substituted amines and then mono- and poly- functionalized of oligonucleotides were created with some remarkable properties.

This study was supported by Presidium RAS Program FIMT, RFBR No 16-34-01219 and grant of the Russian Science Foundation grant No. 14-44-00068

DNA-BASED CONCATAMERIC NANOSTRUCTURES FORMATION USING NATIVE AND MODIFIED OLIGONUCLEOTIDES

Shevelev G. Y.^{1,2}, Kupryushkin M. S.¹, Lomzov A. A.^{1,2}, Pyshnyi D. V.¹

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

Self-assembled DNA nanostructures are very promising tools for the drug delivery and biomarker detection. Characterization of physico-chemical properties and spatial organization of such associated complexes is valuable goal for exploring the understanding this object and prediction perspective analogs. Using the combination of native and modified nucleic acids allows to construct branched and self-organized DNA-nanostructures with desired properties.

DNA concatamers formed by native, bended [1] or branched [2] oligonucleotides were characterized via the gel electrophoresis and atomic force microscopy (AFM), very effective tool for direct visualization of double stranded DNA structures. We have optimized the protocols of visualization of supramolecular DNA complexes using the surfaces of mica and grapheme via the AFM technique. It was shown that the preliminary processing of mica surface is necessarily. It was established that the processing of APTES to the layer of newly air-cleaved mica surface and addition of Ni (II) cations minimize the DNA structure perturbation. Using optimized visualization protocol the influence of oligonucleotides structure on spatial organization of supramolecular DNA associates was studied. It was shown that the presence of non-nucleotide insert in the oligonucleotide chain lead to bending dsDNA and formation of self-limited DNA concatemers. In contrast, branched oligonucleotides could form a branched filaments and a dense DNA network.

Using the AFM technique as a direct method of nanostructure visualization we have demonstrated the possibility of manufacturing and self-organization of DNA multicomponent complexes with predefined topology and thermal stability. These DNA associates are formed from rationally designed oligonucleotides and their derivatives.

This study was supported by RFBR 16-34-00885 and grant of the Russian Science Foundation grant No. 14-44-00068

References

1. Vinogradova O. A., Lomzov A. A., Shevelev G. Y., et al / *Nanorings from Concatemeric DNA: Chemical Modification Drives Nanostructure Formation* / JNN. 2015. V. 15, P. 4170–4177.
2. Kupryushkin M., Pyshnyi D. (2012) *A convenient Approach to the Synthesis of the Phosphoramidite Non-Nucleotide Monomers for the Preparation of Functionalized Oligonucleotide Derivatives*. Biorgan. Khim. 2012. V. 38, P. 745-749.

PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF CONCATAMERIC DNA COMPLEXES

Lomzov A. A.¹, Filippov N. S.^{1,2}, Kizilova V. A.¹, Vinogradova O. A.¹, Shevelev G. Yu.¹, Pyshnyi D. V.¹

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Rzhanov Institute of Semiconductor Physics SB RAS, Novosibirsk, Russia*

ConcatamERIC DNA complexes are linear polymeric structures that formed by reversible self-association of oligonucleotides through specific Watson-Crick interactions. Polymerization is possible when the oligonucleotides blocks have a complementary sticky ends. Concatamers could be used as agents for gene therapy, tools for molecular biology and in DNA diagnostics. The efficient usage of such polymeric constructions can be possible in the case of their detailed physico-chemical characterization.

We have studied thermal stability, hybridization kinetics, conformation, size and a variety of forms of concatamers [1-3]. It was found that thermal stability is determined by thermodynamic parameters of duplex fragments and cooperative interactions in the nicks. The thermodynamic models characterizing the polymeric complexes formation with the different impact of thermal stabilities of various structural elements were proposed and verified experimentally. Based on the model proposed we determined the size of the concatamERIC complexes and found excellent agreement of calculated distribution with those obtained by gel electrophoresis. At the next stage we proposed to regulate concatamERIC complexes size using short oligonucleotides (stoppers) which prevent chain elongation by interaction only with one dangling end. The proposed thermodynamic model allows predicting the size of shortened complexes that gives the possibility for directed design of polymeric system. Based on the structure analysis of oligo(ethylene glycol) phosphates modified DNA-duplexes we have constructed concatamERIC complexes which form self-terminated structures. To prove the formation of cyclic form we performed gel electrophoresis, enzymatic digestion and AFM experiments. Further analysis of the modified DNA complexes shows the possibility of the formation shortest self-terminated complex which consist of only two oligonucleotides. We have studied this type of complexes and proposed the mechanisms of opening this type of complexes.

Using experimental techniques we proved the formation mainly the bimolecular self-terminated structures.

This work was supported by FIMT 2014-154 and RFBR 16-04-01029

1. Filippov N. S. et. al. *Thermodynamic description of oligonucleotide self-association in DNA concatamer structures. Biophysics* 54 (3), 280-290.

2. Vinogradova O. A. et. al. *Bent dsDNA with defined geometric characteristics in terms of complexes of bridged oligonucleotides. Rus. J. Bioorgan. Chem.* 35 (3), 349-359

3. Vinogradova O. A. et. al. *Nanorings from ConcatamERIC DNA: Chemical Modification Drives Nanostructure Formation. J. Nanosci. Nanotech.* 15 (6), 4170-4177.

SOI-FET SENSOR FOR SPECIFIC LABEL-FREE DETECTION OF SHORT RNA MARKERS

Dmitrienko E. V.¹, Naumova O. V.², Fomin B. I.², Kupryushkin M. S.¹, Potyvaeva A. V.¹, Tronin A. V.³, Amirhanov N. V.¹, Semenov D. V.¹, Pyshnaya I. A.¹, Pyshnyi D. V.¹

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia,*

²*A.V. Rzhanov Institute of Semiconductor Physics, Novosibirsk, Russia,*

³*MBU-Technology, Ltd., Novosibirsk, Russia*

MicroRNA (miRNA), an 18–24-nucleotide (nt) noncoding RNA molecule in the genes of humans, plants and animals, is emerging as a key player in gene regulation. As a result, label-free, rapid, and sensitive detection for miRNA is of great significance.

On the other hand it is well known that nanowire (NW) transistors on the base of silicon-on-insulator (SOI) substrates are the high sensitivity electrochemical transducers (sensor elements). They transform the interaction of the bio or chemical target particles with the NW surface into the change of the NW conductivity.

In this work, a label-free and direct hybridization assay for ultrasensitive detection of miRNA using silicon nanowires device has been developed. Oligonucleotide probes, which serve as a receptor to recognize miRNA directly without labeling the target miRNA, are immobilized on the surface of the NW device. As specific probes we used short oligonucleotides (ON) and new type of nucleic acid analogues with a phosphoryl guanidine group (PGO). Such probes is noncharged, and resistance change measured before and after hybridization correlates directly to concentrations of the hybridized target miRNA.

Surface modification and immobilization of probes is one of the key issues and factors that determine the selectivity and specificity of binding of the target particle to sensor. Therefore in this study we investigated the different types (protocols) of SOI surface modification (including functionalization of surface by carbonyldiimidazole (CDI) or glycidoxypyltrimethoxysilane (GPS), for comparison) and their effects (i) on the charge-state of sensor surface, (ii) response values and (ii) on the specificity of binding of the target particles on the example of RNA molecules. Highly specific response with femtomolar sensitivity to saRNA was demonstrated for CDI-PGO modified sensors fabricated by optical lithography. The proposed protocol of modification of sensor surface is a promising procedure for biomedical applications.

This study was supported by Presidium RAS Program FIMT, RFBR No. 16-34-00782

FLUORESCENT LABELING OF TAQMAN OLIGONUCLEOTIDE PROBES VIA CU(I)-CATALYZED ALKYNE-AZIDE CYCLOADDITION (CUAAC) "CLICK" CHEMISTRY

Vasilyeva S. V.¹, Burakova E. A.¹, Zhdanova L. G.², Anisimenko M. S.², D. A. Stetsenko^{1,3}

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*ООО "Laboratoriya Medigen", Novosibirsk, Russia*

³*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

Real-time quantitative PCR (qPCR) technology has revolutionized nearly all areas of microbiology including food microbiology, clinical, industrial or environmental microbiology and microbial biotechnology [1]. A typical TaqMan real-time PCR probe contains a 5'-fluorescent dye and a 3'-quencher. Each TaqMan probe is characterized by starting (background) and resulting (plateau) fluorescence intensity level. Properly designed TaqMan probes should have low background and high plateau fluorescence. The approach leading to a background fluorescence decrease of the TaqMan probe is the moving of a dye or a quencher from a terminal to an internal position in an oligonucleotide. A distance decrease between a dye and a quencher gives rise to a more efficient Förster resonance quenching, thus diminishing the original probe fluorescence [2].

In this report we disclose the synthesis of TaqMan oligonucleotide probes by Cu(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC) "click" chemistry when oligonucleotides modified internally with alkynyl groups are labeled post-synthetically with a fluorescent azide. The probes were prepared with fluorescein dye in different internal positions and BHQ1 quencher at the 3'-end. Our previously developed alkynyl phosphoramidites have been employed for the synthesis of alkynyl oligonucleotides [3]. It was shown that the TaqMan probes resulted can detect accumulation of PCR product in real-time. The closer to the label the 3'-terminal quencher is, the more quenching efficiency increases but the efficiency of probe hybridization to the template is reduced due to steric effects.

We have demonstrated that the optimal distance between the fluorophore and quencher is around 18-20 nucleotides.

1. *Quantitative real-time PCR in applied microbiology. Martin Fillion (Ed), Norfolk, Caister Academic Press, 2012.*

2. Ryazantsev D. Y. et al., *Anal. Bioanal. Chem.*, 2012, 404, 59-68.

3. Vasilyeva S. V. et al., *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 2011, 30, 753-767.

This work was supported by RFBR grant № 16-03-01055 and by a grant of the Russian Science Foundation grant № 14-44-00068

International Research Workshop
"Targeting the RNA world"
Session 2
Structural insights into RNA functions

CHEMICAL BIOLOGY FOR RNA MANIPULATION: RATIONAL DESIGN OF SUPRAMOLECULAR BIOCATALYTIC SYSTEMS

Bichenkova E. V.

Manchester Pharmacy School, University of Manchester, United Kingdom

The development of novel biocatalytic supramolecular structures mimicking the active centre of natural ribonucleases and capable of cleaving RNA can provide a basis for generating new useful molecular biology tools and powerful therapeutics, affecting biologically significant RNAs associated with pathogenic human diseases (e.g. messenger RNAs, microRNAs, viral genomic RNAs). A considerable effort has been recently made in designing artificial or chemical ribonucleases [1-4], which represent a particular class of synthetic, robust catalysts capable of cleaving RNA selectively.

Recently, a new type of chemical ribonucleases with unusual catalytic and structural properties has been discovered [5-10]. These novel oligonucleotide-mediated chemical nucleases were constructed by chemical conjugation of short, catalytically inactive oligopeptides containing alternating basic and hydrophobic amino acids with an oligonucleotide recognition component. These biomimetics containing multiple catalytic elements may offer a gene-specific approach to chemotherapy where a disease that involves the production of a harmful protein could be treated by interference with a disease-relevant RNA. The most remarkable feature of these novel biocatalysts was that the covalently attached oligonucleotide units induced catalytic activity of a previously inactive peptide and modulated its cleavage specificity towards RNA. The conjugation of peptide and oligonucleotide seems to produce a new, hybrid type of molecule that can synergistically combine the individual properties of the two components to yield a new and unusual catalytic ability [5-10].

This talk will explore the integration of synthetic, computational and analytical chemistry with structural and chemical biology (e.g. high-field multi-dimensional NMR, molecular modelling, fluorescence spectroscopy) in order to investigate structural aspects and crucial molecular interactions of this type of chemical nucleases with their biological targets. By identifying the chemical rules behind recognition properties and catalytic efficiency of these biocatalytic systems, we can manipulate with the catalytic and regulatory units of these molecular hybrids in order to adjust their hydrolytic activity and base-specificity towards RNA sequences. This may provide a basis for rational design of such biocatalytic systems with desired reactivity and ability to precisely recognise and destroy pathogenic RNAs in a catalytic manner.

This work was supported by a grant of the Russian Science Foundation № 14-44-00068

1. Trawick B. N., Daniher A. T., and Bashkin J. K. (1998) *Chem. Rev.* 98: 939-960.
2. Komiyama M. et al. (2001) *Methods Enzymol.* 341: 455-468.
3. Cowan J. A. (2001) *Curr. Opin. Chem. Biol.* 5: 634-642
4. Beloglazova N. G. et al. (2004) *Nucl. Acids Res.* 32, 3887-3897.
5. Pyshnyi D. et al. (1997). *Nucleosides & Nucleotides*, 16: 1571-1574.
6. Mironova N. L., et al. (2002) *Russ. Chem. Bull.* 51: 1177-1186.
7. Mironova N. L., et al. (2004) *Nucl. Acids Res.* 32, 1928-1936.
8. Mironova N. L. et al. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 23, 591-602 (2006).
9. Mironova N. L. et al. *Nucl. Acids Res.* (2007) 35, 2356-2367.
10. Williams A. et al. *Bioconjugate Chemistry* (2015) 26(6), 1129-1143.

MIRNASES: OLIGONUCLEOTIDE-PEPTIDE CONJUGATES TARGETED TO ONCOGENIC MIR-21

Patutina O. A.¹, Miroshnichenko S. K.¹, Mironova N. L.¹, Bichenkova E. V.²,
Bazhenov M. A.¹, Pyshnyi D. V.¹, Vlassov V. V.¹, Zenkova M. A.¹

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*University of Manchester, Manchester, United Kingdom*

Over the last decade, extensive studies have shown that miRNAs act as active regulators of pathological processes, engage in the etiology of a wide range of oncological diseases and therefore receive increasing interest as promising therapeutic targets. For this reason the efforts of the scientific community are focused on searching for effective ways to modulate the impaired miRNA expression. A direct approach for regulation of the amount of miRNAs in tumour cells could be the creation of artificial site-selective ribonucleases.

In this work a novel type of chemically engineered miRNA-specific artificial ribonucleases, termed 'miRNases' have been designed and studied. miRNases consist of linear or hairpin miRNA-targeting oligonucleotide and short RNA-cleaving peptide consisting of pairs of alternating glycine and arginine. The cleavage efficacy and biological relevance of miRNA silencing by the use of miRNases was studied for miR-21, established highly oncogenic miRNA abnormally overexpressed in almost every tumour type. The analysis of ribonuclease activity revealed that miRNases promote highly effective site-selective cleavage of miR-21 exclusively at G-X bonds. In lymphosarcoma cells it has been shown that miRNases are able to perform a specific inhibition of miR-21 and lead to a reduction in proliferative activity of tumour cells. Thus, this is the first miRNA-specific artificial ribonucleases effectively down-regulating miRNA in tumour cells.

The obtained results indicate that miRNases may have potential as novel candidates for drug design, aimed at overcoming the overexpression of miRNAs associated with oncopathology.

This work is supported by Grant of Russian Science Foundation No. 14-44-00068, Scientific Schools SS-7623.2016.4, RFBR grant No. 14-04-01007a.

STRUCTURAL INVESTIGATION OF ACTIVITY AND RNA-BINDING PROPERTIES OF ARTIFICIAL RIBONUCLEASES

Trivoluzzi L. T.

School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, University of Manchester, Manchester, United Kingdom

A new class of peptidyl-oligonucleotide conjugates have been recently developed [1,2] which showed to cleave RNA in an effective site-specific fashion [3]. These site-selective artificial ribonucleases consist of a catalytic unit, a peptide containing an alternating basic (R) and hydrophobic (L) residues, attached to a DNA oligonucleotide complementary to the targeted RNA. It has been suggested that the oligonucleotide fragment is responsible for inducing an active conformation of the highly flexible peptide through a network of intramolecular interactions. An understanding of the contribution of the peptide structure alteration is hindered by the lack of structural information on the bound and unbound forms of the components of the conjugates.

This research aims to provide a description of the structural dynamics of induced conformational changes occurring in the peptidyl-oligonucleotide complex through the combined use of two-dimensional heteronuclear NMR spectroscopy with site-specific ^{15}N and ^{13}C labelling of amino acids. Molecular modelling was used to determine the role of the positively charged amino acids of the conjugates and electrostatic interactions in the complex with the RNA target.

1. Beloglazova T. G., Fabani M. M., Polushin N. N., *Journal of Nucleic Acids*, 2011, 17.

2. Williams A., Staroseletz Y., Zenkova M., Jeannin L., Aojula H., Bichenkova E. *Bioconjugate Chemistry* 2015 26 (6), 1129-1143.

3. Mironova, N. L., Pyshnyi, D. V., Shtadler, D. V., Fedorova, A. A., Vlassov, V. V., Zenkova, M. A., *Nucleic. Acids. Res*, 2007, 35, 2356-2367.

DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC MIRNA DETECTION USING 3D PEPTIDE-HYDROGEL OLIGONUCLEOTIDE BIOSENSORS

Patric King

School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, University of Manchester, Manchester, United Kingdom

The sequence-specific detection of oligonucleotides is critical in the diagnosis and prognosis of a range of serious diseases, including many cancers. Current 2D-based detection methods suffer from a number of limitations, particularly reproducibility between devices and the generation of false positives. Self-assembling peptide hydrogels provide a novel 3D platform on which probes can be immobilized and used for sequence-specific oligonucleotide detection, SNP discrimination and for 'fishing' out target sequences within longer sequences. Here we discuss current designs and their application to the detection of DNA and MiRNAs, whose expression levels are directly related to a number of serious diseases.

This work was supported by a grant of the Russian Science Foundation grant № 14-44-00068

ARTIFICIAL RIBONUCLEASES ON THE BASE OF OLIGONUCLEOTIDE-PEPTIDE CONJUGATES: ROLE OF CONFORMATIONAL FLEXIBILITY IN CATALYTIC CLEAVAGE OF RNA

Staroseletz Y.¹, Williams A.², Bichenkova E.², Zenkova M.¹

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, University of Manchester, Manchester, United Kingdom*

RNA-targeting agents are recognised as a promising alternative to conventional small-molecule therapeutic strategies that often suffer from poor target selectivity as a result of small size and limited number of chemical functional groups. This may lead to cytotoxicity and undesirable side-effects in humans. Silencing disease-specific genes at the level of expressed RNA could lead to a reduction in drug related side-effects commonly associated with poor drug selectivity and/or high dosages of conventional therapeutics.

Peptidyl-oligonucleotide conjugates (POCs) represent a class of chemical nucleases which catalyze the hydrolytic cleavage of the RNA phosphodiester backbone. POCs traditionally consist of a short (e.g. 6 to 17-mer) targeting motif and a covalently attached amphiphilic peptide (5 to 10-mer) consisting of alternating leucine and arginine residues. The antisense motif is able to target a specific RNA and direct the catalytic peptide to the desired RNA region. The overall cationic nature of the peptide sequence allows it to interact with the negatively charged phosphodiester backbone within the target RNA region and promote RNA hydrolysis.

Two series of POCs, different in the length and structure of peptide, addressing oligonucleotides and linkers was designed and tested and some of them demonstrated high cleavage activity. The POCs of the first series contained amphiphilic peptide and a 17-mer oligodeoxynucleotide, targeted against TΨC-stem-loop. Adding the glycine residue in the central position of peptide increased strongly (from 25% to 95-100%) cleavage extent. Presumably, glycine increases the flexibility of the peptide, and therefore allows it to take a favourable conformation for the required 'in-line' geometry for 2'OH attack of the bridging phosphorus atom.

The conjugates of the second series (dual conjugates, DC) place the catalytic peptide in-between two oligodeoxynucleotide recognition motifs, targeting TΨC-stem-loop and acceptor stem. Highly flexible N-Maleoyl-β-alanine and thiol-hexyl linkers at both ends of the catalytic peptide are shown to be strongly necessary for cleavage activity of the POCs, since POCs with zero-length phosphoramidate linker appeared to be catalytically inactive towards target tRNA^{Phe}. Two conjugates (DC6 and DC7) with such linkers demonstrated high cleavage activity against tRNA^{Phe}. Conjugate DC7 induced 40% cleavage of tRNA^{Phe} in total upon 24h incubation. An incorporation of an extra glycine residue into the catalytic peptide of DC6 pushed the RNA cleavage potential further and allowed this conjugate to reach maximum of catalytic activity (i.e. 100%) in a much shorter incubation time (i. e. 4h).

These results clearly demonstrate that the success of sequence-specific RNA cleavage relies on a very fine mechanism of conformational tuning and matching.

International Research Workshop
"Targeting the RNA world"
Session 3
RNA targeting and its effects
on biological functions

CHEMICAL MODIFICATION AND CONJUGATION OF siRNA

Yasuhiro Shinkai, Shinichi Kashihara, Hirohumi Fujii, Go Minematsu, Madoka Naemura, Yojiro Kotake and Masayuki Fujii

School of Humanity Oriented Science and Technology, Kinki University, Fukuoka, Japan

Herein we describe chemical modification and conjugation of siRNAs and gene silencing effects of them.

As a result, two types of siRNA-NES conjugates C1 (TFIIIA NES, β ALVLDKLTl-OH) and C2 (HIV-1 Rev NES, β ALPPLERLTl-OH) were prepared in which 5'-end of sense strand was covalently linked to N-terminus of the NES peptides derived from TFIIIA and HIV-1 rev, respectively [1, 2]. Silencing effects of C1 and C2 against bcr/abl mRNA in human leukemia cell line K562 were evaluated by quantitative PCR. Significant enhancement of silencing efficiency was observed with C1 and C2. siRNA-TFIIIA NES (C1) suppressed the expression of bcr/abl gene to 8.3% at 200 nM and 11.6 % at 50nM and siRNA-HIV-1rev NES (C2) suppressed to 4.0 % at 200 nM and 6.3 % at 50nM. The large enhancement of the silencing efficiency of siRNA-NES conjugates could be reasonably ascribed to the localization of siRNA-NES conjugates in cytoplasm.

We also report the effects of cationic modifications of siRNA at 5'-end on their RNAi efficiencies. We synthesized siRNAs modified with 5-amino-5'-deoxythymidine (T*) at 5'-end, targeting EGFP mRNA (214-234) bearing U, T or T* at 5'-end of the sense strand and/or the antisense strand and evaluated silencing efficiencies on EGFP in HeLa cells.

As a result, siRNAs bearing T or T* at their 5'-end of sense strand were less effective than siRNAs bearing U at their 5'-end of sense strand. It can be interpreted that the sense strand was more probably preferred as a guide strand than the antisense strand because the 5'-end of the sense strand was thermodynamically less stable than that of the antisense strand. It should be also pointed out that T* at the 5'-end of the sense strand did not interfere the processes of RISC Loading Complex (RLC) formation, loading to RISC or cleavage of the passenger strand by Ago2. On the contrary, siRNAs with T* at 5'-end of antisense strand completely lost their silencing abilities. This can be interpreted as a result of destabilization of RISC by an electrostatic repulsion between the ammonium group of T* and the cationic residues in MID domain pocket of hAgo2 [3].

These results strongly suggest that a modification of 5'-end of a sense strand with T* will suppress an off-target effect.

This work was supported by a grant of the Russian Science Foundation № 14-44-00068

1. T. Kubo, M. Morikawa, H. Ohba, M. Fujii, *Org. Lett.*, 2003, 5, 2623-2626.

2. T. Kubo, Z. Zhelev, B. Rumiana, H. Ohba, K. Doi and M. Fujii, *Org. Biomol. Chem.*, 2005, 3, 3257-3259.

3. Ian J. MacRae, et al., *Science*. 2012, 336(6084) 1037-1040. L. Joshua-Tor, et al., *Cell*, 2012, 150, 100-110.

IMMUNOSTIMULATING RNA: ANTITUMOR AND ANTIMETASTATIC EFFECTS

Kabilova T. O.¹, Sen'kova A. V.¹, Nikolin V. P.², Popova N. A.², Vlassov V. V.¹,
Zenkova M. A.¹, Chernolovskaya E. L.¹

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia*

Small interfering RNAs, depending on their structure, delivery system and sequence, can stimulate innate and adaptive immunity. Recently, we designed a series of short double-stranded RNAs that possess pronounced antiproliferative activity in cancer cells, induce α interferon production in human PBMC culture and in mice after i.v. injection. These RNAs did not have substantial homology to any human or mouse mRNAs. The aim of the present study was to evaluate the antitumor and antimetastatic potential of selected 19-bp RNA duplexes with 3-nucleotide overhangs in the 3'-ends (here and after isRNA) in mice with melanoma B16 and hepatocellular carcinoma (HCC) G29. For the *in vivo* delivery of isRNA we used cationic liposomes 2X3-DOPE consisting of the recently created polycationic lipid 2X3 (1,26-Bis(cholest-5-en-3'-ylloxycarbonylamino)-7,11,16,20-tetraazahexacosan tetrahydrochloride) and the lipid-helper DOPE (1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine).

The results of *in vivo* experiments show that single intravenous injection of isRNA complexed with transfection reagent efficiently increases the level of IFN- α , and to a lesser degree the level of pro-inflammatory cytokine IL-6 in mice blood serum. The detection of a refractory state to re-induction of interferon- α allowed to optimize the treatment regimen.

The results on C57BL mice/melanoma B16 tumor model under the optimized regimen show that systemic administration of the isRNA/2X3-DOPE complexes resulted in significant reduction of tumor volume and metastatic spreading in lungs of C57BL/6 mice. Histopathological analysis of liver and spleen cross-sections showed hyperplasia of the lymphoid white pulp and formation of large germinal centers in murine spleen after isRNA administration, suggesting immune system activation. The treatment of melanoma-bearing animals with isRNA leads to the decrease of the destructive changes of the liver parenchyma, especially after peritumoral administration of the drug.

We found that isRNA reduced the metastases area in the liver, kidneys and heart of CBA/LacSto mice with HCC G-29 and cause reliable inhibition of the primary tumor growth. Furthermore, injections of isRNA significantly enhanced necrotic processes in the center of the primary tumor, and decreased by twofold the width of the undifferentiated peripheral zone and the number of mitotic cells in this zone. The obtained results revealed the pronounced immunostimulatory, antitumor and antimetastatic properties of the studied isRNA.

This work was supported by the Russian Scientific Foundation, grant #16-15-10105 and the Scientific School #SC-7623/2016.

MECHANISMS OF INVOLVEMENT OF ARTIFICIAL ncRNA ANALOGUES IN GENE EXPRESSION REGULATION IN HUMAN CANCER CELLS

Stepanov G. A.¹, Juravlev E. S.^{1,2}, Shender V. O.³, Filippova J. A.¹, Nushtaeva A. A.¹, Kuligina E. V.¹, Richter V. A.¹, Semenov D. V.¹

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

³*Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russia*

To date, due to the development of NGS technologies, the data on new functions of "classical" non-coding RNAs, including transfer RNAs, small nuclear RNAs (snRNAs) and small nucleolar RNAs (snoRNAs) have been accumulated. For instance, snoRNAs were shown to induce oxidative stress and activation of PKR-dependent and pro-apoptotic changes in mammalian cells upon release into the cytoplasm. Moreover, ncRNAs circulating in human and animal body fluids are believed to be involved in intercellular communication.

In the current work, we created a series of synthetic RNAs containing structural features of human snoRNAs and snRNAs and performed the analysis of changes in gene expression upon their transfection into human cells. The sequences of native human U24, U25, U35a, and U74 box-C/D-snoRNAs, as well as U12 and U6atac minor spliceosomal snRNAs were chosen as the basis for constructing ncRNA analogues.

In order to identify the novel pathways of snoRNA action, we have performed whole-transcriptome microarray analysis of changes in gene expression in human breast adenocarcinoma MCF-7 cells induced with box-C/D-RNA analogues. Upregulation of the innate immune response and pro-apoptotic cascades genes was found in transfected cells. Artificial box-C/D-RNAs were established to induce activation of some specific microRNAs, which, according to the bioinformatics data, can cause the downregulation of a wide group of mRNA and ncRNA. Next, we identified the structural features of snoRNA analogues responsible for the induction of non-specific effect and chose modifications of the artificial ncRNA structures that provide a significant decrease in the level of observed innate immune response.

In order to determine the pathways of the selective influence of snRNA and snoRNA analogues on gene expression, the effect of synthetic RNAs on the result of complementary RNAs maturation in human cells was analyzed. It was shown ncRNA analogues can be involved in different stages of target pre-mRNAs and pre-rRNAs maturation upon penetration into cells.

The description and detailed study of "non-classical" pathways of ncRNA functions provide the basis for understanding their role in the development of human diseases and searching for new therapeutic approaches.

This work was supported by RFBR grants 16-04-01414, 16-34-60136, 16-04-01457 and a Fellowship of the President of the Russian Federation for young researchers (2063.2015.4)

**TUMOR EVASION OF IMMUNOSURVEILANCE:
THE ROLE OF THE CELLULAR REACTIVE OXYGEN SPECIES (ROS)**

Kunchai S., Krstic-Demonacos M., Demonacos C.

University of Manchester, Manchester, United Kingdom

The interaction between the tumor and the immune system during the process of carcinogenesis and the mechanisms governing both induction and suppression of tumor progression by the immune system are important factors in determining the prognosis of cancer progression. The endoplasmic reticulum (ER) is the organelle in which various vital cellular functions take place and the site where most of the newly synthesized proteins acquire their functional conformation. The endoplasmic reticulum plays crucial role in the crosstalk between the tumor and the immune system of the host since this organelle is implicated in all three stages (elimination, equilibrium and escape) of the immune response against the tumor. In particular secretion of tumor derived soluble factors that facilitate suppression of the immune response against the tumor as well as inhibition of expression and inappropriate folding and assembly of the major histocompatibility complex class I and II and therefore loss of antigen presentation rendering the tumor immunologically poor have been attributed to the perturbation of the homeostasis of the endoplasmic reticulum in cancer cells. Cancer cells generate high levels of reactive oxygen species (ROS) triggering activation of ER oxidoreductases and chaperones. Protein disulfide isomerase (PDI) is an ER redox-responsive factor with chaperone and reductase activities and a component of the transporter associated with antigen processing (TAP), which regulates the MHC I stability and its ability to present antigens to cytotoxic T lymphocytes.

Recent findings in our laboratory have revealed alternative regulation of PDI and MHC class I protein levels in a cell type and hormone dependent manner supporting the notion that manipulation of the PDI enzymatic activity and its protein-protein interactions with the estrogen receptor (ER alpha) and other intracellular partners could affect the capacity of breast cancer cells to present antigen and hence tumor immunorecognition. Understanding of the molecular mechanisms of the TAP construction and regulation of the MHC I stability will provide important insight into the process of tumor antigen presentation and immunorecognition and the development of novel immunotherapies.

This work was supported by a grant of the Russian Science Foundation № 14-44-00068

CANCER RELATED PATHWAYS RESPOND TO RIBONUCLEASE A TREATMENT AFFECTING MICRORNA MACHINERY OF TUMOUR CELLS

Mironova N. L., Patutina O. A., Brenner E. V., Kurilshikov A. M., Zenkova M. A.

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

Recently, we have shown that the pancreatic RNase A is capable of inhibiting tumor and metastasis growth and one of the mechanisms is associated with the change of miRNA profiles in the blood and tumor cells. Since miRNAs are key regulatory elements, it is obviously to study the changes in the levels of their mRNA targets and entire networks as possible targets of RNase A. Here, we performed an analysis of whole transcriptome of Lewis lung carcinoma tissue after treatment of tumor-bearing mice with RNase A by high-throughput sequencing using SOLiD 5.5 platform.

An analysis of changes in whole transcriptome of Lewis lung carcinoma cells after the decrease of the invasion potential of the tumor by RNase A revealed up-regulation of 317 genes and down-regulation of 625 genes in tumor cells. KEGG pathway analysis showed that many of these genes involved in signaling pathways that regulate energy metabolism, cell-growth promoting and transforming activity, modulation of cancer microenvironment and extracellular matrix components, inflammation and immune suppression, cellular proliferation and differentiation. Detailed mapping indicate strong up-regulation of carbohydrate, inositol and nicotinamide metabolisms, oxidative phosphorylation, focal adhesion, actin cytoskeleton and Casp3/Casp7 dependent apoptosis, whereas TGF-beta, JAK/STAT and MAPK signaling pathways were down-regulated. Search for relations between miRNA targets let to reveal mRNA and regulatory networks.

Obtained data give the evidence that RNase A caused in tumor cells rearrangement of intracellular pathways associated with malignant transformation and tumor escape from immunological surveillance towards normalization.

This work was supported by a grant of the Russian Science Foundation grant No. 14-44-00068, grant SS-7623.2016.4 and RFBR grant No. 14-04-01007a

International Research Workshop
"Targeting the RNA world"
Session 4
Delivery of therapeutic nucleic acids

BIODISTRIBUTION OF THERAPEUTIC siRNA AND CH-SIRNA IN TUMOR-BEARING MICE

Gladkikh D. V., Chernikov I. V., Meschaninova M. I., Ven`yaminova A. G., Vlassov V. V., Zenkova M. A., Chernolovskaya E. L.

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

Delivery of siRNA to the target cells is the main challenge in their biomedical application. Various approaches including the use of cationic lipids and polymers, nanoparticles, and conjugates successfully solve this problem in the cell culture. New problems, such as aggregation in the serum, kidneys filtration, elimination by phagocyte system reduces their bioavailability at the transition to the organism level.

Recently, we designed conjugates of anti-MDR1 nuclease-resistant siRNAs with cholesterol attached through optimized linker that are capable to penetrate efficiently into the cells in a carrier-free mode, to silence the expression of P-gp and to restore the sensitivity of drug resistant cancer cells to vinblastine. Within this study, we investigated the carrier-free biodistribution and gene silencing activity of this siRNA in tumor bearing mice.

In vivo multispectral fluorescent imaging analysis revealed that Ch-siRNA accumulates in internal organs of SCID mice 24h after i.v. administration 2.4 times more efficient than non-lipophilic siRNA and almost 50 time more efficient than siRNA/Lipofectamine complex. The data show, that 24 h after i.v. and i.p. injections the efficiency and patterns of Ch-siRNA accumulation in internal organs was similar: the major proportion of Ch-siRNA accumulated in liver, moderate amount - in kidneys and tumor; low amounts were detected in heart, lungs and spleen. Accumulation of Ch-siRNA after i.m. and s.c. injections in the organs was very low, the major amount of Ch-siRNA remained in the vicinity of the injection site. Examination of liver and tumor cross sections by confocal microscopy show Ch-siRNA is unevenly distributed in the tumor volume, but practically all tumor cells contain Ch-siRNA in their cytoplasm, and Ch-siRNA is absent in the nuclei of cells. The distribution of Ch-siRNA in liver display homogenous pattern.

The gene silencing effect of cholesterol-containing siRNA targeting P-glycoprotein was evaluated in drug resistant KB-8-5 human xenograft tumor in SCID mice using Western blot analysis. The reduction of p-glycoprotein level has been observed at 4th day after siRNA administration when it decreased by 40%, the level continues to decrease at days 5 -6, reaching a minimum level on day 6, after which there is a gradual increase in the level of p-glycoprotein and its initial level recovered by 8th day.

Thus, cholesterol-containing conjugates of nuclease-resistant siRNAs are able to accumulate in the the tumor in mice, to silence the expression of MDR1 gene, and could be used for drug development.

This work was supported by the Russian Scientific Foundation, grant №14-14-00697 and the Scientific School № SC-7623/2016

IN VIVO EVALUATION OF CELL-PENETRATING PEPTIDE CONJUGATES OF PHOSPHORYL GUANIDINE OLIGONUCLEOTIDES AS NEW POTENTIAL THERAPEUTICS FOR DUCHENNE MUSCULAR DYSTROPHY

Fokina A. A.¹, Chelobanov B. P.^{1,2}, McClorey G.³, Arzumanov A. A.⁴, Gait M. J.⁴, Wood M. J. A.³, Stetsenko D. A.^{1,2}

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

³*University of Oxford, Oxford, United Kingdom*

⁴*MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, United Kingdom*

Duchenne muscular dystrophy is a severe genetic disease that affects one boy out of about 3600. The disease occurs because of mutations in DMD gene disrupting biosynthesis of dystrophin, which is an important protein of muscle tissue. It is possible to correct splicing of dystrophin pre-mRNA by skipping the mutant exon under the action of antisense agents such as phosphordiamidate morpholino oligonucleotides (PMO). However, the efficacy of PMO, though adequate in skeletal muscle, is not up to therapeutic levels in the diaphragm and heart due to poor delivery of naked PMO into those critical organs after systemic injection. Improvement of the activity is possible to achieve via conjugation of a splice-correcting oligonucleotide to a cell-penetrating peptide such as Pip6a peptide [1]. Luckily, charge neutral backbone of PMO makes peptide conjugation a lot easier.

Recently we have described a new class of nucleic acid analogues that substitute charge neutral phosphoryl guanidine group for the anionic phosphate group [2]. We have shown that phosphoryl guanidine oligonucleotides (PGO) with 2'-OMe RNA backbone have been able to correct splicing of mutant dystrophin pre-mRNA *in vitro* in murine H2k mdx myotubes. The level of exon skipping by 2'-OMe PGO matched well the activity of antisense PMO. In this report, we demonstrate that Pip6a conjugates of a 25-mer antisense 2'-OMe PGO have not only 10fold higher activity in cell culture but, more importantly, are active splice-correcting agents *in vivo* after an intravenous injection into mdx mice. Notably, the activity of Pip6a-PGO conjugate was detectable not only in a skeletal muscle but also in the diaphragm and heart. Thus, cell-penetrating peptide conjugates of phosphoryl guanidine oligonucleotides (PGO) with 2'-OMe RNA backbone could be a promising new type of potential therapeutic agents for the treatment of Duchenne muscular dystrophy.

1. Lehto T., Castillo Alvaraz A., Gait M. J. et al., *Nucleic Acids Res.*, 2014, 42, 3207-3217.

2. Stetsenko D., Kupryushkin M., Pyshnyi D., patent application WO2016/028187A1, priority from 22.08.2014.

This work was funded by RFBR grants №№ 15-03-06331, 15-29-01334, 15-54-10049 and 16-03-01055

Oligonucleotide synthesis was supported by RSF grant № 15-15-00121. Peptide synthesis was funded by RSF grant 14-44-00068

**NEW FLUORESCENT PYRROLE-IMIDAZOLE POLYAMIDE PROBES
FOR CELL IMAGING: SYNTHESIS, TARGET DNA BINDING AND
INTERACTION WITH FIXED AND LIVING MURINE AND HUMAN CELLS**

Nozeret K., Loll, F., Escudé C., Boutorine, A. S.

Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France

Twelve pyrrole-imidazole polyamides targeting repeated DNA sequences of mouse major satellites and seven polyamides targeting human α -satellite DNA repeats were synthesized, characterized and labeled by fluorophores. A great difference in affinities and fluorescence properties of the probes has been observed, suggesting that the capacity of these molecules to be used as fluorescent probes does not only rely on the established recognition rules, but also on other structural factors (polyamide and target sequences, presence and position of N-methylimidazole and β -alanine, fluorescent labelling and others). Using fluorescent microscopy, we demonstrated that all the murine-specific fluorescent probes were able to selectively label the major satellites in fixed murine cells. In living cells, the specific visualization of murine chromocenters was possible only using one Oregon Green and two fluorescein isothiocyanate conjugates.

The results obtained on two fixed murine cell lines have validated the concept of use the fluorescent probes based on pyrrole-imidazole polyamides for intracellular DNA imaging. For the first time, chemical synthetic tools have lead to the live cell visualization of nuclear substructures formed by murine repeated DNA sequences (chromocenters). In fixed and living human cells, all the human-specific probes stained chromosomal DNA without any selectivity. The organization of centromeric or pericentromeric DNA sequences is potentially different in different cell types and cannot be studied in the same way in humans and mice.

References:

- [1] Nozeret, K., Bonan, M., Yarmoluk, S.M., Novopashina, D.S., Boutorine, A.S. *Bioorg. Med. Chem.*, 2015, 23, 5932-5945.
[2] Nozeret, K., Loll, F.; Escudé, C.; Boutorine, A. S., *ChemBioChem*, 2015, 16, 549-554.

ANTIVIRAL ACTIVITY OF PHOSPHODIESTER, PHOSPHOROTHIOATE AND PHOSPHORYL GUANIDINE OLIGONUCLEOTIDES DELIVERED INTO MDCK CELLS INFECTED WITH H5N1 INFLUENZA A VIRUS BY LIPOFECTAMINE OR TiO₂ NANOPARTICLES

Levina A. S.^{1,2}, Repkova M. N.^{1,2}, Chelobanov B. P.^{1,2}, Bessudnova E. V.^{2,3}, Mazurkova N. A.⁴, Stetsenko D. A.^{1,2}, Zarytova V. F.^{1,2}

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

³*Institute of Catalysis SB RAS, Novosibirsk, Russia*

⁴*State Research Centre of Virology and Biotechnology Vector, Koltsovo, Russia*

Oligonucleotide derivatives have been studied as prospective antiviral agents especially after the approval of the first oligonucleotide drug Vitravene against cytomegalovirus in 1998. However, generally poor uptake of oligonucleotides into cells necessitates the design of special delivery systems to facilitate nucleic acid internalization including those based on inorganic nanoparticles [1]. We have proposed earlier to deliver DNA fragments into cells in the form of nanocomposites consisting of TiO₂ nanoparticles and native phosphodiester oligodeoxyribonucleotides (PO) conjugated to polylysine, and obtained efficient inhibition of influenza A virus replication [2, 3]. We report herein on the synthesis of new TiO₂ nanocomposites containing DNA phosphorothioates (PS) and recently described oligo-2'-O-methylribonucleotides with charge-neutral phosphoryl guanidine groups (PG) [4]. We demonstrate that not only PO but also PS and PG oligonucleotides exhibit antiviral activity in MDCK cells infected with H5N1 influenza A virus when delivered either by lipofectamine or as TiO₂ nanocomposites.

Sequences of PO, PS and PG oligonucleotides were complementary to the same part of the 3'-end of segment 5 of (–)RNA of H5N1 virus. Free oligonucleotides showed almost no effect but their antiviral activity increased significantly in the presence of lipofectamine. When PO, PS or PG oligonucleotides were employed as TiO₂ nanocomposites, replication of H5N1 virus was inhibited 5000 fold (PO and PG) and 130 fold (PS). Noteworthy, this is the first instance when antiviral activity of novel PG oligonucleotides was detected in cell culture.

This work was supported by RFBR grant № 15-04-04109

Synthesis of phosphoryl guanidine oligonucleotides was funded by RSF grant № 15-15-00121

Synthesis of TiO₂ nanocomposites was funded by RSF grant № 16-15-10073

1. Juliano R., Ming X., Nakagawa O., Bioconjugate Chem., 2012, 23, 147.

2. Levina A., Ismagilov Z., Repkova M. et al., J. Nanosci. Nanotechnol., 2012, 12, 1812.

3. Levina A., Repkova M., Mazurkova N. et al., Int. J. Antimicrob. Agents, 2015, 46, 125.

4. Stetsenko D., Kupryushkin M., Pyshnyi D., patent application WO2016/028187 A1 from 22nd August 2014.

EFFECT OF DELIVERY SYSTEMS ON BIOLOGICAL ACTIVITY OF OLIGONUCLEOTIDES

Zarytova V. F.¹, Repkova M. N.¹, Ismagilov Z. R.², Shatskaya N. V.³, Mazurkova N. A.⁴, Levina A. S.¹

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Institute of Catalysis SB RAS, Novosibirsk, Russia*

³*Federal Research Center Institute Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia*

⁴*FBRI State Research Centre of Virology and Biotechnology "Vector", Koltsovo, Russia*

Attempts to using the potential of oligonucleotides as therapeutic agents began over 40 years ago [1–3]. However, there are still some barriers in the way of effective oligonucleotide therapeutics, i.e., their instability in serum, fast renal clearance rate, intracellular trafficking to reach the target site, etc. The efficient intracellular delivery remains a key problem despite many attempts to overcome it.

We proposed a new delivery strategy of nucleic acid fragments (NAFr) into cells as components of TiO₂-based nanocomposites. For the first time, we demonstrated their ability to penetrate into cells. To deliver NAFr (siRNA, DNazymes, etc.) into cells, we synthesized two type of nanocomposites, i.e., TiO₂•PL-NAFr and TiO₂•PL±NAFr (with NAFr noncovalently immobilized on TiO₂nanoparticles through the polylysine linker or on the preformed TiO₂•PLconjugates, respectively). The proposed nanocomposites were demonstrated to deliver NAFr into cells without transfection agents. These nanocomposites showed a low toxicity and high antiviral activity in cell culture [4]. We chose segment 5 (encoding nucleoprotein NP) of influenza A viral (IAV) genome as a target to affect the virus replication by the proposed nanocomposites. The most efficient nanocomposites containing unprotected phosphorodiester NAFr inhibited the viral reproduction by three–four orders of magnitude. This effect was higher than that described in literature for NA-based compounds delivered into cells by other systems [5, 6].

It allows us to conclude that the delivery systems with the use of the proposed nanocomposites are more effective to transfer NAFr into eukaryotic cells.

1. Belikova A. M., Zarytova V. F., Grineva N. I. *Tetrahedron Lett.* 1967, 37, 3557–3562.
2. Miller P., Barrett J., Ts'o P. *Biochemistry* 1974, 13, 4887–4906.
3. Zamecnik P., Stephenson M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1978, 75, 280–284.
4. Levina A., Repkova M., Ismagilov Z. et al. *Sci. Rep.*, 2012, 2, a756.
5. Zhang T., Wang T. C., Zhao P.S. et al. *Int. Immunopharmacol.* 2011, 11, 2057–2061.
6. Stoppani E., Bassi I., Dotti S. et al. *Antiviral. Res.* 2015, 120, 16–22.

THE DESIGN OF DENDRITIC SYSTEMS FOR THE DELIVERY OF THERAPEUTIC NUCLEIC ACIDS

Apartsin E.¹, Majoral J.-P.², Gómez R.³, Shcharbin D.⁴, Bryszewska M.⁵, Venyaminova A.¹

¹*Institute of chemical biology and fundamental medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Laboratory of the coordinational chemistry CNRS, Toulouse, France*

³*University of Alcalá, Alcalá de Henares, Madrid, Spain*

⁴*Institute of biophysics and cell engineering NASB, Minsk, Belarus*

⁵*University of Lodz, Lodz, Poland*

Delivery of therapeutic nucleic acids is an emerging problem of modern medicine. Despite of significant progress in this field, the development of the new nucleic acid carriers is still of great interest. Dendritic systems – dendrimers and dendrons are prospective candidates for this purpose.

We report the design of a series of dendrimers and dendrons able to bind pro-apoptotic anticancer nucleic acids (Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1 siRNA, miR-34a, miR-29b microRNA mimics and anti-miR21, anti-miR221, anti-miR-222 microRNA antagonists) and to deliver them to target cells.

To obtain the dendrimers, we used the phosphorous architecture. Thanks to their topology, phosphorous dendrimers have low density of functional groups on the periphery permitting to obtain molecules of high generations [1] which are known to have better transfection ability. We have obtained phosphorous dendrimers of generations 1-4 decorated with different cationic moieties. These new dendrimers were able to bind siRNA and microRNA and to carry them efficiently to the target cells (HeLa, HL60) that has resulted in the induction of the apoptosis.

To obtain the dendrons, the carbosilane chemistry was used [2]. The carbosilane dendrons have high density of functional groups on the periphery, and they can be easily functionalized in the focal point using different chemical moieties. In this work, we obtained the dendrons bearing aliphatic residues or pyrene fragments in the focal point. Basing on the former, the micelles were obtained, and their interactions with siRNA were studied. The latter was used to decorate the surface of carbon nanotubes followed by the complexation with siRNA to form hybrid nanoparticles. The biological properties of the constructions obtained are now under study.

These data suggest that dendritic systems and dendritic-based supramolecular and nanoconstructions can be efficient carriers for therapeutic nucleic acids into cells.

1. Caminade A.-M. et al. *Chem. Soc. Rev.* 2015, 44 (12), 3890

2. Fuentes-Paniagua E. et al. *Eur. Polym. J.* 2016, 71, 61

This work was supported by the RFBR grants No.15-54-04068_bel_mol_a (microRNA delivery) and No.16-33-60152_mol_a_dk (siRNA delivery), by the NANOGENE project within the 7th EU Framework Programme (synthesis of the dendritic systems), and by the Scholarship of the President of the Russian Federation (grant No.882.2016.4, study of the properties of the dendritic systems)

**DELIVERING DIFFICULT DRUGS:
POORLY-SOLUBLE SMALL MOLECULES AND
POORLY-PERMEABLE LARGE MOLECULES**

Clarke D. J.

Manchester Pharmacy School, University of Manchester, United Kingdom

The bioavailability of small and large molecule drugs and their selective penetration of diseased tissues and cells is a challenge along the path of drug development and the Anglo-Russian collaboration. Many small organic molecules selected for their pharmacological activity in vitro tend to be inadequately soluble in water at the doses required, resulting in poor and variable bioavailability in vivo. The non-selective penetration of tissues by such drugs also results in off-target toxicity to healthy tissues. Similarly, most larger molecule nucleic acid drugs, and their polymer, lipid and peptide assemblies, like protein drugs are poorly bioavailable. And, despite their high specificity for their molecular target, also cause off-target effects when their molecular target is expressed in healthy tissues.

Nanoscale engineering of solubility and permeability at epithelial absorption barriers (e.g., gut, lung and skin), selective targeting of diseased tissue (e.g., infections, tumours) and trafficking within cells will be considered.

КОНСТРУИРОВАНИЕ ЛИПИДНЫХ СИСТЕМ ДОСТАВКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ НУКЛЕИНОВЫХ КСЛОТ

Морозова Н. Г, Маслов М. А.

Институт тонких химических технологий, Московский технологический университет, Москва, Россия

Конструирование липидных систем доставки терапевтических нуклеиновых кислот (ТНК) представляет собой комплексную проблему, а ее решение связано с созданием модульных систем, которые представляют собой самособирающиеся транспортные контейнеры, построенные из ковалентно несвязанных друг с другом липофильных модулей, и «запрограммированные» на преодоление биологических барьеров.

Решающее влияние на эффективность доставки НК в клетки оказывает структура одного из липофильных модулей – катионного амфифила. Она определяет не только его индивидуальные биохимические свойства (такие как токсичность и способность к деградации под воздействием биохимических стимулов), но также отвечает за его способность образовывать супрамолекулярные ансамбли. Каждый из структурных компонентов в молекуле амфифила выполняет определенную функцию: гидрофобный домен ответственен за формирование липосомальных структур, катионный домен необходим для связывания с отрицательно заряженной молекулой НК, а спейсерная группа обеспечивает подвижность катионного и гидрофобного доменов в пространстве.

Для создания липидных систем доставки ТНК был предложен подход к дизайну катионных амфифилов и разработаны унифицированные подходы к их синтезу. В качестве исходного объекта нами была выбрана структура, в которой гидрофобный домен связан непосредственно с катионной группировкой. Основываясь на данной структуре, нами были предложены другие варианты амфифильных молекул, в том числе и с адресными лигандами для создания таргетных систем доставки ТНК. Чтобы иметь возможность получать липидные системы доставки в количествах, необходимых для проведения биологических испытаний и последующего практического применения, были разработаны химические подходы, позволяющие в короткие сроки и с максимальными выходами синтезировать амфифилы с различной компоновкой структурных доменов. Наличие такого химического инструментария дает возможность масштабировать микросинтетические процедуры и перейти в дальнейшем к созданию лабораторной технологии их получения. Совокупность всех синтезированных нами амфифилов с различными структурными характеристиками послужит основой для формирования химических «библиотек», с помощью которых по результатам биологических испытаний можно оценить вклад каждого структурного элемента в трансфицирующую активность и выявить соединения с оптимальным вариантом компоновки структурных единиц.

Концепция «модульности», которую мы заложили в разрабатываемые системы доставки, позволяют конструировать транспортное средство под конкретную задачу, а разработанные методы синтеза основных структурных модулей позволяют получить соединения в количествах, необходимых для проведения широкомасштабных биологических исследований.

SYNTHESIS OF PHOSPHORUS-CONTAINING DENDRIMERS TOWARDS BIOLOGICAL APPLICATIONS

Rebout C., Majoral J.-P., Caminade A.-M.

Laboratoire de Chimie de Coordination du CNRS, Toulouse, France

Dendrimers are highly branched macromolecules, constituted of repetitive units emanating radially from a central core [1]. Due to the presence of these repetitive units, dendrimers pertain to the world of polymers; however, they are never synthesized by polymerization reactions, but step by step, most generally by the repetition of two quantitative reactions. Each layer between two consecutive level of branching points is called a generation.

Phosphorus-containing dendrimers are constituted of phosphorus atoms at all branching points. The starting point is a core having P-Cl functions, in particular the hexachlorocyclotriphosphazene, $N_3P_3Cl_6$, to which 4-hydroxybenzaldehyde is grafted in basic conditions. The second step is the condensation of the terminal aldehydes with the thiophosphorhydrazide $H_2NNMeP(S)Cl_2$. Both reactions are quantitative, and the last one affords P-Cl terminal functions on which the reaction with 4-hydroxybenzaldehyde can be applied again to continue the growing [2], eventually up to the twelfth generation [3]. Different variations around this main method of synthesis have been proposed [4], including one recently [5]. Depending on the reaction step considered, these dendrimers have either $P(S)Cl_2$ or aldehyde (CHO) terminal functions. Both types of functions have a versatile reactivity, which can be used for decorating the dendrimers with functions suitable for specific purposes, in particular with functions inducing biological properties. Selected examples of specific functionalizations will be given, in particular towards transfection experiments [6], and towards immunostimulations [7].

1. Caminade A.M., Turrin C.O., Laurent R., Ouali A., Delavaux-Nicot B, *Dendrimers. Towards catalytic, material and biomedical uses. Eds. 21 chapters, 528 pages, John Wiley & Sons, Chichester (UK), 2011.*

2. Launay N., Caminade A.M., Lahana R., Majoral J.P. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1994, 33, 1589.

3. Lartigue M.L., Donnadieu B., Galliot C., Caminade A.M., Majoral J.P., Fayet J.P. *Macromolecules* 1997, 30, 7335.

4. Galliot C., Larré C., Caminade A.M., Majoral J.P. *Science* 1997, 277, 1981.

5. Dib H., Rebout C., Laurent R., Mallet-Ladeira S., Sournia-Saquet A., Sarosi M., Hey-Hawkins E., Majoral J.P., Delavaux-Nicot B., Caminade A.M. *Chem. Eur. J.* in press 2016.

6. Padié C., Maszewska M., Majchrzak K., Nawrot B., Caminade A.M., Majoral J.P. *New. J. Chem.* 2009, 33, 318.

7. Caminade A.M., Fruchon S., Turrin C.O., Poupot M., Ouali A., Maraval A., Garzoni M., Maly M., Furer V., Kovalenko V., Majoral J.P., Pavan G.M., Poupot R. *Nature Comm.* 2015, 6, 7722.

NOVEL MODULAR GENE DELIVERY SYSTEMS FOR TARGETED DELIVERY OF THERAPEUTIC NUCLEIC ACIDS

Kabilova T.¹, Markov O.¹, Gladkikh D.¹, Filatov A.¹, Chernolovskaya E.¹, Shmendel E.², Maslov M.², Zenkova M.¹

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia.*

²*Institute of fine chemical technology, Moscow Technological University, Moscow, Russia*

One of the problem of gene therapy is a development of stable and safety non-viral transport systems for delivery therapeutic nucleic acids (NA) into the target cells with efficiency equal that of viral vectors. The using cationic liposomes as delivery vectors is one of promising approach of gene therapy. Positively charged complexes composed of cationic liposomes and NA (called "lipoplexes") are able to adsorb on plasmatic membrane of cells and to entry into them by means of endocytic pathway. However, the wide application of cationic liposomes is limited by their low efficiency and unspecific delivery into the cells. These drawbacks are linked with the existence of a number of different biological barriers for lipoplexes such as interaction with blood serum proteins, plasmatic and nucleic membranes and endosomal degradation. A concept of modular gene delivery systems (MGDS) was introduced ten years ago as an appropriate structural paradigm for synthetic non-viral vector. In MGDS nucleic acid is condensed into cationic liposomal formulations consisting of different lipophilic modules that mediate environmental and cellular receptors interactions and intracellular trafficking to overcome limiting barriers.

Here we report on the application of MGDS on the basis of core liposome 2X3-DOPE described previously and lipoconjugates equipped with a targeted module (mannose. Folate, D-galactose) to perform targeted delivery of therapeutic nucleic acids.

Mannosylated MGDS consisting of core liposome (2X3-DOPE), and 2.5%, 5% or 10% of mannosylated lipoconjugates containing D-mannose residue and dialkylglycerol connected via succinyl or diethylsquarate linkers were applied to enhance delivery of NA encoding tumor antigens into dendritic cells (DCs) and enhance their immunogenicity. Obtained data clearly demonstrated that incorporation of 10% mannosylated lipoconjugate into MGDS resulted in formulation exhibited high efficacy of DNA and RNA delivery in vitro, ability to meet DCs in vivo and mediate generation of tumor-specific CTLs with enhanced activity.

Folate receptors (FRs) are cellular surface markers for various cancer cells. MGDS containing lipophilic folic acid. MGDS containing novel folate-based lipoconjugates (FCs) built of 1,2-di-O-ditetradecyl-rac-glycerol and folic acid connected by spacers of various types and lengths were shown to efficiently deliver NA into FR-expressing cells. We demonstrated that FC with the longest polyethylene glycol-based spacer, but not with hydrophobic one, provided efficient NA delivery when incorporated into MGDS. The folate-MGDS mediated targeted delivery of NA (antisense oligonucleotide, siRNA, pDNA) into the cells in vitro and stimulate preferential accumulation of NA in the tumor when applied in vivo

New bivalent neutral neogalactolipids based on spermine have been synthesized to develop an effective targeted MGDS. The D-galactose moiety was chosen as a ligand to asialoglycoprotein receptors (ASGPr) of hepatocytes. Targeted MGDS provided the efficient delivery of NA into Hep G2 cells.

This research was supported by the Russian Academy of Science under the programs "Molecular and Cellular Biology"; by the grant Scientific schools SS-01350.2014.4, RFBR grant 13-04-40181-H, MOV was a recipient of Presidential fellowship 1619.2013.4.

Секция 1
Химия нуклеиновых кислот

МИКРОЧИПОВЫЙ СИНТЕЗАТОР ДНК

Синяков А. Н.¹, Бессмельцев В. П.², Камаев Г. Н.³, Поливанов П. А.⁴,
Шелковников В. В.⁵

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

²*Институт автоматики и электрометрии СО РАН, Новосибирск, Россия*

³*Институт физики полупроводников им. Р.В. Ржанова СО РАН,
Новосибирск, Россия*

⁴*Институт теоретической и прикладной механики им. С.А. Христиановича
СО РАН, Новосибирск, Россия*

⁵*Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН,
Новосибирск, Россия*

Для создания микрочипового синтезатора ДНК была разработана оптическая проекционная система фотолитографического модуля на основе управляемой микромеханической зеркальной матрицы, разработаны методы контроля совмещения биочипа с формируемой маской, проведено проектирование электронных и оптико-механических блоков модуля. Осуществлен расчет оптической проекционной схемы Оффнера методами геометрической оптики с целью оптимизации параметров синтезатора.

На основе предложенной оптической схемы и выполненных расчетов по оптимизации оптических элементов изготовлен модуль проекционной системы фотолитографии с динамической программируемой маской для формирования изображения маскированного света на поверхности биочипа, состоящий из цифровой матрицы микрозеркал, оптического блока на основе схемы Оффнера, системы точного позиционирования и контроля положения биочипа. Предельное разрешение модуля составляет 30 мкм при контрасте $M=0.90$, что позволяет осуществлять синтез биочипов с общим количеством зондов более 21,5 т. шт. на площади 10,5 x 14 мм.

Разработан метод изготовления биочипов для проведения олигонуклеотидного синтеза с помощью микроэлектронной планарной технологии.

Для конструирования микрочипа высокой плотности, предназначенного для синтеза олигонуклеотидов нового поколения, было проведено исследование внутренней гидродинамики и оптимизация структуры микрочипа.

Для деблокирования диметокситритильной защитной группы в ходе микрочипового олигонуклеотидного синтеза использовали гексафторфосфаты катионного производного тиоксантен-9-она и сульфонаты оксимов тиофенового ряда.

С использованием фотогенераторов кислот осуществлен синтез целевых олигонуклеотидов.

МОДИФИКАЦИЯ ТУШИТЕЛЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ВНQ1 ПРИ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЙ ОЧИСТКЕ ТАQMAN ЗОНДОВ

Рябинин В. А., Костина Е. В., Максакова Г. А., Синяков А. Н.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

При электрофоретической очистке в денатурирующем полиакриламидном геле ТаqМaп-зондов тушители флуоресценции ВНQ1 и ВНQ2 способны претерпевать модификацию под действием следовых количеств персульфата аммония, используемого в качестве инициатора полимеризации при заливке геля. На примере тушителя ВНQ1 показано, что в присутствии персульфата аммония протекает реакция Бойланда-Симса с образованием соответствующего сульфата. Полученный тушитель имеет максимум поглощения смещенный в коротковолновую область, относительно максимума поглощения исходного ВНQ1. ТаqМaп зонд, содержащий такого рода тушитель, менее эффективен, чем зонд, содержащий немодифицированный ВНQ1. Решающую роль в этом превращении играет наличие флуоресцеина в ТаqМaп зонде: в отсутствие флуоресцеина или его замене на родаминовый краситель (R6G, Tamra или ROX) модификация тушителя протекает с существенно меньшей скоростью.

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕКУРСОРНОГО ПОДХОДА ДЛЯ СИНТЕЗА СЕРИИ АНАЛОГОВ НАД⁺ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ПАРП 1

Шерстюк Ю. В.¹, Захаренко А. Л.¹, Кутузов М. М.¹, Суханова М. В.^{1,2}, Лаврик О. И.^{1,2}, Сильников В. Н.¹, Абрамова Т. В.¹

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

Никотинамидадениндинуклеотид (НАД⁺) играет ключевую роль в биохимии в качестве кофактора окислительно-восстановительных реакций и субстрата для ADP-рибозилтрансфераз и НАД⁺-гликогидролаз при регуляции множества жизненно важных биохимических процессов, таких как снабжение клеток энергией, поддержание целостности генома, транскрипция, запрограммированная гибель клеток [1]. Благодаря огромному значению НАД⁺ в биохимии, к настоящему времени синтезированы тысячи аналогов и миметиков этого соединения для изучения механизма действия соответствующих ферментов и/или для их ингибирования. В то время как аналоги НАД⁺, содержащие все три части молекулы (никотинамидрибозид, пирофосфат и аденозин), широко применяются для ингибирования ферментов, использующих НАД⁺ в качестве кофактора, исследования действия подобных соединений в ферментативных системах, где НАД⁺ выступает в качестве основного субстрата, очень ограничены [2].

ПАРП 1 является ключевым регулятором метаболизма ДНК и поддержания целостности генома. Этот фермент активируется при повреждениях ДНК, вызванных окислительным стрессом, и запускает механизм репарации ДНК, перенося остатки ADP-рибозы от НАД⁺ на аминокислотные остатки различных белков (в том числе и на себя) и/или на растущую цепь поли(ADP-рибозы). В настоящее время ПАРП 1 рассматривается как важная фармакологическая мишень при лечении онкологических заболеваний, поэтому поиск новых классов ингибиторов ферментов семейства ПАРП является актуальной задачей биоорганической химии [3].

Мы предлагаем использовать для ингибирования ПАРП 1 аналоги НАД⁺, состоящие из аденозина, пирофосфата и природного или модифицированного нуклеозида, имитирующего остаток никотинамидрибозида. Для синтеза миметиков НАД⁺, содержащих в качестве аналога никотинамидрибозида аминометилморфолиновые нуклеозиды, мы разработали удобную стратегию синтеза, включающую в себя получение ключевых соединений, содержащих алкиламиногруппу, присоединенную к концевому фосфату ADP через линкеры различной длины, с последующим введением модифицированного нуклеозида с применением диметилосалата как промежуточного активатора алкиламиногруппы. Разработанный метод отличается универсальностью и высокими выходами.

Изучено влияние полученных миметиков НАД⁺ на активность ПАРП 1. Обнаружена зависимость эффективности ингибирования от длины линкера и от типа гетероциклического основания.

1. Belenky P., et al. *Trends Biochem. Sci.* 32 (2007) 12-19.
2. Wang S., et al. *Molecules* 19 (2014) 15754-15767.
3. Papeo G., et al. *Expert Opin. Ther. Patents* 23 (2013) 503-514.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты № 14-04-01018а и 16-54-76010 ERA-NET)

ПРИМЕНЕНИЕ КОМПОЗИТНЫХ ТИТАНАТОВ, НИОБАТОВ И ТАНТАЛАТОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПОЛИАМИНОВ В КАЧЕСТВЕ СОРБЕНТОВ ДЛЯ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ ДНК

Зобнина А. Е., Румянцев А. М., Бритвин С. Н., Падкина М. В.

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Относительно новым направлением создания сорбентов, обеспечивающих быстрое и эффективное разделение макромолекул, является использование матриц на основе композитных материалов. Такие материалы объединяют в себе механические свойства неорганического носителя с уникальными сорбционными свойствами иммобилизованных на его поверхности полимерных фаз. Свойства сорбента зависят от матрицы и от функциональных групп/лигандов. Однако доступность функциональной группы/лиганда зависит от структуры сорбента.

В данной работе в качестве композитных сорбентов были использованы оксометаллаты титана, тантала, которые содержали биоактивный амин спермин ($C_{10}H_{26}N_4$), а также оксометаллаты ниобия с биоактивными аминами спермином и спермидином ($C_7H_{19}N_3$). Для изучения емкости сорбентов использовали высокомолекулярную геномную ДНК из эритроцитов цыпленка.

Мы показали, что сорбционная емкость сорбента зависит от длины углеродной цепи биоактивного амина: для варианта ниобий-спермидин емкость была в два раза выше, чем для варианта ниобий-спермин. Емкость сорбента также зависела от структуры композитного материала: была выше в случае ниобатов, имеющих каркасную кристаллическую структуру, и ниже в случае слоистых титанатов. Сорбенты на основе тантала занимают промежуточное положение. Это может быть обусловлено стерическими препятствиями для взаимодействия макромолекул с сорбентом. Показано также, что взаимодействие с исследованными сорбентами не нарушает функциональность и биологические свойства нуклеиновых кислот, о чем свидетельствуют результаты ПЦР с использованием элюированной ДНК в качестве матрицы.

Предварительные результаты показали, что исследованные сорбенты демонстрируют значительно большую емкость в отношении плазмидной ДНК, что дает возможность их использования для избирательной очистки биологических образцов от примеси геномной ДНК. Результаты бактериальной трансформации элюированной ДНК подтвердили, что плазмидная ДНК после связывания с изучаемыми сорбентами сохраняет свою биологическую активность.

В настоящее время мы исследуем возможность использования перечисленных сорбентов для выделения и фракционирования плазмидной и геномной ДНК из грубых экстрактов бактерий.

ЭКСПРЕСС-АНАЛИЗ ДНК ПРИ ПОМОЩИ КВАРЦЕВЫХ РЕЗОНАТОРОВ

Дульцев Ф. Н.^{1,3}, Колосовский Е. А.¹, Ломзов А. А.^{2,3}, Пышный Д. В.^{2,3}

¹Институт физики полупроводников им. А. В. Ржанова СО РАН,
Новосибирск, Россия

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия

³Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

Предложена методика на основе QCM в активном режиме, с помощью которой можно проводить анализ ДНК на соответствие, т.е. сделать сенсор для определения типа ДНК. Чувствительность методики 10⁻⁷ моль/л. Один из вариантов применения - проверка двух разных ДНК на комплементарность без необходимости полной расшифровки.

Для этого мы закрепляем на поверхности кварцевого резонатора ds-ДНК-1 и подаем переменное напряжение резонансной частоты кварца. При этом мы увеличиваем амплитуду колебаний поверхности, и при определенном напряжении происходит или отрыв, или раскручивание двойной спирали ДНК. Типичное напряжения для раскручивания - 5-6 вольт. Одновременно проводится промывание в процессе обработки, для того чтобы удалить комплементарный олигонуклеотид, другими словами, сделать из двойной спирали одинарную. Таким образом, мы получаем детектирующую ячейку. Проверяемую на соответствие ДНК-х мы также закрепляем на поверхности второго кварцевого резонатора, во второй ячейке, проводим обработку, но в этом случае мы используем раствор с удаленным комплементарным олигонуклеотидом, и этот раствор перемещаем в детектирующую ячейку с ДНК-1. Теперь при сканировании возможны два варианта: при полном соответствии ДНК-1 и ДНК-х мы увидим сигнал раскручивания в районе 3-4 вольт, а в случае, если соответствие отсутствует полностью, мы увидим сигнал ~ 1 вольт. Экспериментально это было проверено на модельных ДНК (олигонуклеотидах). В случае несоответствия мы наблюдали сигнал при напряжении 0.8 вольт, а при соответствии появлялся сигнал 3 вольт. Детектируемая ячейка может использоваться многократно.

Данная методика может служить основой для создания новых типов биосенсоров, измеряющих силу аффинных взаимодействий (зонд/биомолекулярная мишень) на поверхности сенсорного элемента устройства.

DESIGN OF NUCLEIC ACID-POLYUNSATURATED FATTY ACID CONJUGATES: PROBLEMS AND PERSPECTIVES FOR IMPROVED CHEMOTHERAPY

Popova T. V.¹, Lisitskiy V. A.¹, Zakharova O. D.¹, Kaledin V. I.², Ryabchikova E. I.¹, Godovikova T. S.¹

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia*

Drugs could be selectively transported into cancerous cells using vectors in order to avoid dangerous side effects. The working principle of a vector consists in using the affinity of certain substrates for metabolite receptors. Incorporation of polyunsaturated fatty acid residues (PUFAs) into therapeutic constructions provides their interaction with blood plasma proteins (human serum albumin and alpha-fetoprotein). It opens the possibility to use these conjugates for the drug delivery to tumor cells by both passive transport and receptor-mediated endocytosis via the AFPr pathway. PUFA itself can interact with some receptors such as GPR40, GPR120, and PPAR.

Conjugates of nucleotides and nucleic acids (trifluorothymidine-5'-monophosphate, thymidine-5'-monophosphate, and pT16) and PUFAs (linoleic, docosahexaenoic, and eicosapentenoic acids) were constructed and obtained. The dependence of the conjugate stability on the nucleotide acid nature and the type of the linker was revealed. The pT16-PUFA conjugates have improved characteristics: a stronger affinity to AFP and stable duplex formation. The micelles formation of the oligonucleotide acid conjugates in physiological solutions was shown. The micelles diameter was about 100 nm. The macromolecular conjugate of linoleic acid with the polyethylenamine linker exhibits anticancer properties against murine Krebs-II ascites carcinoma. The intraperitoneal injection of the conjugate resulted in the prolongation of the animals' life and to the complete disappearance of the tumor after three injections. The trifluorothymidine-linoleic acid conjugate has several properties that make it unique as a promising antitumor agent. First, the presence of the fatty acid moiety and the polymer in its structure ensures the local drug uptake. Second, the acid-labile bond between linoleic acid derivative and phosphorylated trifluorothymidine enables the release of the drug in the acidic environment of the tumor.

Finally, once delivered to the targeted cells, trifluorothymidine acts as a powerful anti-tumor weapon. In addition, due to the presence of three trifluoromethyl groups, the trifluorothymidine-linoleic acid conjugate is a promising agent for ¹⁹F magnetic resonance imaging and spectroscopy. The present results open the door to a new family of drugs for treating cancer: ligand-directed theranostic agents.

This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (RFMEFI61314X0015)

ДИЗАЙН И СИНТЕЗ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ПАРП-1 НА ОСНОВЕ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРОФОСФАТОВ НУКЛЕОЗИДОВ

Шерстюк Ю. В., Захаренко А. Л., Кутузов М. М., Суханова М. В., Лаврик О. И.,
Сильников В. Н., Абрамова Т. В.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

В связи с повышенной активностью ферментов репарации ДНК в опухолевых клетках перспективной мишенью для таргетной терапии являются белки семейства поли(АДФ-рибоза)-полимераз (ПАРП), играющие, ключевую роль в репарации ДНК. Наиболее изученным ферментом этого семейства является ПАРП-1. Этот фермент принимает участие во многих клеточных процессах, включая репликацию ДНК, репарацию, рекомбинацию, генную транскрипцию, клеточную пролиферацию и гибель клетки. Воздействие ингибиторов на ПАРП-1 приводит к понижению частоты восстановления одонитевых разрывов ДНК и, как следствие, к апоптозу - запрограммированной гибели клетки.

НАД⁺, основной субстрат ПАРП-1, представляет собой динуклеотид, состоящий из 5'-фосфата никотинамидрибонуклеозида и 5'-фосфата аденозина, соединенных 5',5'-пирофосфатной связью. Мы предлагаем использовать модифицированные 5',5'-пирофосфаты динуклеозидов, имитирующие НАД⁺, как ингибиторы действия ПАРП-1. Аналоги НАД⁺ представляют собой конъюгаты 5'-дифосфата аденозина, содержащие по концевой фосфатной группе 1) модифицированные по гетероциклическому основанию рибонуклеозиды; 2) 5'-гидроксид- либо 5'-аминометилморфолиновые нуклеозиды, в том числе с модифицированным гетероциклическим основанием; 3) сесонуклеозиды; 4) 3'-модифицированные-2'-дезоксинуклеозиды.

В рамках данной работы предложены различные подходы к получению серий пирофосфатов динуклеотидов. Оптимизированы условия синтеза морфолиновых нуклеозидов, в том числе с модифицированным гетероциклическим основанием. Оптимизирован метод монофосфорилирования по 5'-гидроксильной группе защищенных природных и модифицированных нуклеозидов. Разработан эффективный метод образования пирофосфатной связи как для природных так и для модифицированных динуклеотидов.

В результате получено более 30 новых аналогов НАД⁺. Проведена оценка ингибирующего действия аналогов НАД⁺ на ПАРП-1, выявлены связи между ингибирующей активностью и строением предложенных потенциальных ингибиторов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов 14-04-01018а и 16-34-00718 мол-а.

ПРОИЗВОДНЫЕ 6-МЕТИЛУРАЦИЛА, НЕСУЩИЕ ТРИАЗОЛЬНЫЕ ФРАГМЕНТЫ – НОВЫЙ КЛАСС АНТИМИКРОБНЫХ АГЕНТОВ

Волошина А. Д., Кулик Н. В., Стробыкина А. С., Крылова Е. С., Семенов В. Э.1,
Ленина О. А., Зобов В. В.

*Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научно-
го центра РАН, Казань, Россия*

В связи с быстрым приобретением лекарственной резистентности патогенными микроорганизмами, поиск новых антимикробных малотоксичных лекарственных средств, характеризующихся принципиально новыми механизмами действия имеет первостепенную важность.

Ранее было показано, что производные 1,3-бис(алкил)-6(5)-замещенного урацила, содержащие кватернизированные атомы азота в полиметиленовых цепочках, проявляют широкий спектр антимикробной активности и умеренную токсичность для млекопитающих [1, 2]. Производные 1,2,3- и 1,2,4-триазолов применяются как биологически активные вещества различного действия. Они обладают антибактериальным, противогрибковым, противоопухолевым и противовоспалительным действием.

Нами изучена антимикробная активность, механизм действия, цитотоксичность и острая токсичность на млекопитающих новых производных 1,3-бис(алкил)-6-метилурацила, содержащих 1,2,3- и 1,2,4-триазольные фрагменты в алкильных цепочках. Исследованные соединения протестированы на антимикробную активность по отношению к ряду грамположительных и грамотрицательных бактерий и некоторых культур грибов. Установлено, что основными структурными факторами, влияющими на антимикробную активность соединений являются: количество метиленовых групп в спейсерах и природа алкильных радикалов при триазольных фрагментах.

Минимальные ингибирующие концентрации наиболее активных соединений по отношению к грамположительным бактериям (*Staphylococcus aureus* 209P и *Bacillus cereus* 8035) составляют 0,4-4,0 мг/л, в отношении грамотрицательных бактерий наблюдается в диапазоне концентраций 7,8-31,3 мг/л. Противогрибковая активность соединений лидеров проявляется в концентрациях 0,8-4,0 мг/л.

Исследованные соединения проявляют умеренную токсичность на лабораторных мышах, низкую цитотоксичность на клетках млекопитающих и вызывают угнетение активности дегидрогеназ глюкозы *Staphylococcus aureus* 209P и гриба *Candida albicans* 855-653.

Таким образом, исследован новый класс биологически активных соединений, которые могут представлять значительный интерес для создания новых перспективных антимикробных агентов.

1. Семенов В. Э., Волошина А. Д., Кулик Н. В., Стробыкина А. С., Гиниятуллин Р. Х., Сайфина Л. Ф., Николаев А. Е., Крылова Е. С., Зобов В. В., Резник В. С. Известия академии наук, 2015, 2885 – 2896.

2. Semenov V. E., Voloshina A. D., Toroptzova E. M., Kulik N. V., Zobov V. V., Kh. Giniyatullin R., Mikhailov A. S., Nikolaev A. E., Akamsin V. D., Reznik V. S. Eur. J. Med. Chem., 2006, 1093 - 1101.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-50-00014

ОСОБЕННОСТИ ПРОНИКНОВЕНИЯ И ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ В СОСТАВЕ НАНОКОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ТИТАНА И ПОЛИЛИЗИНА

Челобанов Б. П.^{1,2}, Репкова М. Н.^{1,2}, Байбородин С. И.³, Рябчикова Е. И.^{1,2}, Стеценко Д. А.^{1,2}

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

³*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

При помощи лазерной конфокальной и электронной микроскопии исследовано проникновение комплексов наночастиц TiO_2 с полилизинном и олигонуклеотидом в клетки линий MDCK.1, MDCK.2 и HeLa. Наночастицы TiO_2 использовали как в аморфной, так и в кристаллических (анатаз и брукит) формах. Наноконпозиты были получены двумя способами. По первому способу, олигонуклеотид был ковалентно связан с полилизинном, после чего полученный конъюгат сорбировали на поверхности наночастиц. По второму способу, наночастицы обрабатывали полилизинном, а затем электростатически присоединяли олигонуклеотид. Клетки линий MDCK.1, MDCK.2 и HeLa инкубировали с наноконпозитами в среде IMDM в течении 30 мин, 4 ч и 24 ч.

Было показано, что уже через 30 мин олигонуклеотиды попадали в ядра клеток в значительном количестве и к 24 ч не было существенного увеличения накопления. Контаминация клеток вирусом или микоплазмой не влияла на характер проникновения. Не было отмечено разницы в проникновении олигонуклеотидов при использовании различных модификаций TiO_2 , а электростатические комплексы показывали значительно более высокий уровень проникновения олигонуклеотидов, чем ковалентные. Картина проникновения зависела от стадии клеточного цикла. Все клетки в М-фазе содержали олигонуклеотид в цитоплазме, при этом наблюдались зоны скопления возле хромосом. Почти все клетки в интерфазе содержали олигонуклеотид в ядре, но с разной интенсивностью и без заметного накопления в цитоплазме. Исключение составляли клетки, находящиеся, по-видимому, в самом начале G-1 фазы, которые могли содержать олигонуклеотид в цитоплазме (картина та же, что и в М-фазе) или вообще не содержать олигонуклеотида, что может свидетельствовать о том, что в клеточном цикле есть короткий период, в котором клетки не способны поглощать олигонуклеотид в виде наноконпозита.

Было показано, что наноконпозиты склонны к агрегации – не менее 90% препарата может представлять собой агрегаты, связывающиеся с поверхностью клеток, но не способные, по данным электронной микроскопии, проникать внутрь клеток. Степень агрегации возрастает при хранении препарата вплоть до полной утраты способности к проникновению в клетки.

Таким образом, наноконпозиты на основе TiO_2 с полилизинном могут быть эффективным способом доставки олигонуклеотидов в клетки при условии устранения агрегации.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ №№ 15-03-06331, 15-29-01334, 15-54-10049 и 16-03-01055

Синтез олигонуклеотидов был осуществлен при поддержке гранта РНФ 15-15-00121

ROLE OF PROTEINS IN THE GREEN SYNTHESIS OF INORGANIC NANOPARTICLES

Mohd Sajid Khan

Integral University, Lucknow, India

There are various synthetic methods known for the synthesis of different inorganic nanoparticles; however, they possess potential environmental as well as biological risks. In addition to this, the methods are characterized by very low efficiency.

Here in, we report a simple novel method for the synthesis of different inorganic nanoparticles from their salts (precursors) using different proteins/enzymes as a reducing as well as capping agent. Different inorganic nanoparticles of desired sizes were obtained by altering the concentration of proteins/enzymes and the temperature of incubation. Monodispersed nanoparticles with low size distribution (i.e. 8.59–25.92 nm) were produced using different proteins/enzymes at different temperatures. On the other hand, the sizes of inorganic nanoparticles varied with the variation in the different parameters. Moreover, inorganic nanoparticles synthesized by this method are stable for several months at room temperature.

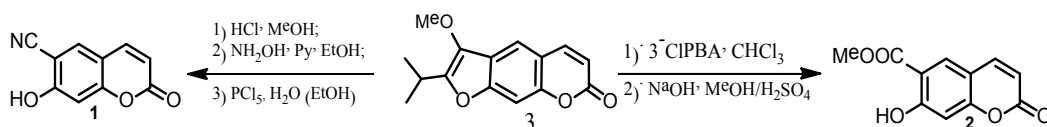
Thus, this method offers an environmentally friendly, single-step approach for fabricating different sizes of stable inorganic nanoparticles which have great potential in the commercial-scale manufacturing of nanoparticles.

ПЕУЦЕДАНИН В НАПРАВЛЕННОМ СИНТЕЗЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ КУМАРИНОВ

Липеева А. В., Шульц Э. Э.

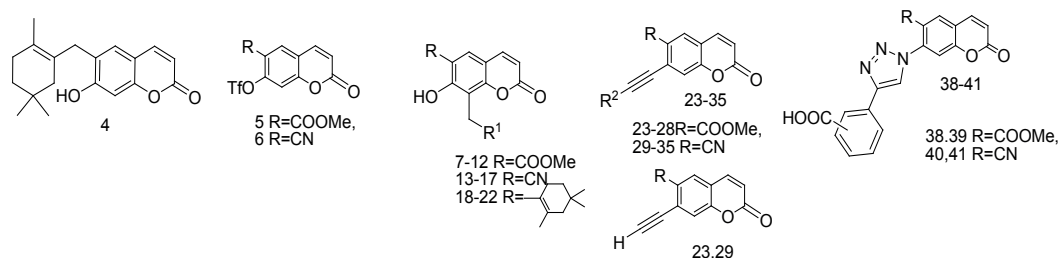
Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова,
Новосибирск, Россия

Замещенные кумарины составляют важную группу биологически активных соединений, в том числе, используемых в медицине [1]. Ранее в нашей лаборатории предложены методы получения 6-замещенных 7-гидроксикумаринов 1, 2 из основного метаболита горичника Морисона пеуцеданина 3 [2].



Нами разработаны методы получения широкого ряда C-7,8 модифицированных производных кумаринов, в том числе гибридных структур. В качестве основных методов модификации 6,7-дизамещенных кумаринов использовали реакцию Манниха кумаринов 1,2,4, реакцию Соногаширы 7-трифторметансульфонилоксикумаринов 5,6, а также CuAAC-реакцию 7-этинилкумаринов 23,29.

Реакцией кумаринов 1,2,4 с аминотетилирующими агентами, генерированными *in situ* из вторичных аминов и формальдегида или параформа при кипячении в диоксане в присутствии DMAP, синтезировали большую группу 8-(R-аминометил)-7-гидроксикумаринов 7-22. При взаимодействии трифлатов кумаринов 4,5 с терминальными алкинами в условиях реакции Соногаширы получили 7-(R-алкинил)кумарины 23-35. Cu-катализируемая реакция 7-этинилкумаринов 23,29 с азидами, полученными из аминокислот, приводила к 7-[4-(X-карбоксифенил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил]-замещенным кумаринам 38-41.



В докладе будут обсуждены выявленные закономерности изученных химических превращений, особенности строения полученных веществ, и некоторые данные биологической активности функционализированных кумаринов.

1. Nordmann J., Eierhoff S., Denißen M., Mayer B., Müller T. *Eur. J. Med. Chem.*, 2015 102, 611.

2. Осадчий С. А., Шульц Э. Э., Шакиров М. М., Толстиков Г. А. *Изв. АН Сер. Хим.* 2006, 362-365.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 14-13-00822

СИНТЕЗ И ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ N,N'-(АЛКАНДИИЛ)БИС[ЛАБДА-7(9),13,14-ТРИЕН-4-КАРБОКСАМИДОВ]

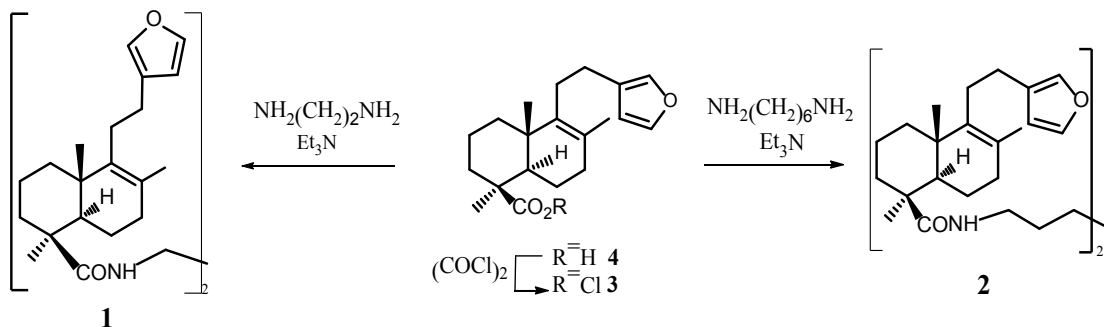
Харитонов Ю. В., Сорокина И. В., Покровский М. А., Шульц Э. Э.

Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН,
Новосибирск, Россия

Химические модификации лабдановых дитерпеноидов - ламбертиановой и фломизоиковой кислот по фурановому фрагменту выявили потенциал производных в качестве противоопухолевых агентов. Получены соединения, обладающие значительной цитотоксичностью *in vitro*, обусловленной индукцией апоптоза опухолевых клеток человека [1,2].

В данном сообщении описывается синтез N,N'-(этан-1,2-диил)- и N,N'-(гексан-1,6-диил)бис(лабдatriен-4-карбоксамидов) 1, 2 и результаты исследования их цитотоксичности и противоопухолевой активности.

Бис(лабдatriенкарбоксамиды) 1 и 2 получали конденсацией хлорангидрида фломизоиковой кислоты 3 с этилендиамином или гексаметилен-1,6-диамином соответственно. Выход целевых соединений 1, 2 после колоночной хроматографии составил 90-98% (в расчете на фломизоиковую кислоту 4).



Противоопухолевую активность соединений 1, 2 и фломизоиковой кислоты 4 определяли в опытах на мышах линии СВА с перевиваемой злокачественной лимфомой, резистентной к циклофосфану (RLS). Соединения вводили внутривенно в водно-твинновой взвеси в курсовом режиме (4 дня в дозе 100 мг/кг) на стадии прогрессивного роста опухоли. Отдельным группам мышей те же агенты вводились на фоне полихимиотерапии (ПХТ) СНОР (парентеральное введение циклофосфана, доксорубицина, винкристина, преднизолона). Установлено, что 1, 2 и фломизоиковая кислота 4 задерживают рост опухолевых трансплантатов на 37, 50 и 27% соответственно, не уступая эффекту ПХТ(40%). При сочетанном введении с цитостатиками данные лабданоиды не оказывают заметного влияния на их терапевтический эффект.

1. Харитонов Ю. В., Шульц Э. Э., Шакиров М. М., Покровский М. А., Покровский А. Г., Толстиков Г. А. Изв. РАН. Сер. Хим. 2013, 2046-2055.

2. Mironov M. E., Pokrovsky M. A., Kharitonov Y. V., Shakirov M. M., Pokrovsky A. G., Shults E. E. Chemistry Select 2016, 3, 417 – 424.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-13-00822

АНТИОНКОРАН-М – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ГЕННО-ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ

Алексеев И. В.^{1,2}, Безбородова О. А.³, Немцова Е. Р.³, Сасс А. В.¹, Геворков А. Р.³,
Хмелевский Е. В.³, Якубовская Р. И.³, Свердлов Е. Д.^{1,2}

¹*Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия*

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

³*«ФМИЦ им. П.А.Герцена» Минздрава России, Москва, Россия*

Потенциальный противоопухолевый генно-терапевтический препарат АнтионкоРАН-М представляет собой комплекс генной конструкции, содержащей ген фермента тимидинкиназы вируса простого герпеса (HSVtk) и ген цитокина гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) и блок-сополимер ПЭГ (полиэтиленгликоль)-ПЭИ (полиэтиленимин). Для облегчения проникновения в клетки к блок-сополимеру ПЭИ-ПЭГ дополнительно присоединен фрагмент ТАТ-белка, повышающий эффективность проникновения блок-сополимера в клетки. HSVtk обладает способностью фосфорилировать нуклеозидный аналог ганцикловир (GCV) до ганцикло-вирмонофосфата. Последующее его фосфорилирование осуществляется посредством клеточных киназ с образованием ганцикловиртрифосфата, который включается в растущую цепь ДНК во время клеточного деления и терминирует ее синтез, тем самым обеспечивая гибель опухолевой клетки. Совместная экспрессия генов HSVtk и GM-CSF в клетках опухоли приводит к гибели раковых клеток за счет работы HSVtk и высвобождению из них опухолевых антигенов, которые эффективно представляются антиген-представляющими Т-клетками иммунной системы, активированными GM-CSF, обеспечивая активацию специфического противоопухолевого иммунитета.

В ходе доклинических испытаний показано, что препарат не имеет биологически значимой острой и хронической токсичности и обладает высокой противоопухолевой активностью: увеличение продолжительности жизни животных 30–86 %, торможение роста опухоли 75–83 %, торможение метастазирования 80–82 % в зависимости от типа опухоли, и низкой токсичностью. На моделях карциномы толстой кишки СТ26 у конвенциональных животных и KB у иммунодефицитных мышей показан синергизм комбинированного лечения потенциальным препаратом АнтионкоРАН-М и радиотерапии с использованием локального однократного облучения в разовой дозе 5 Гр с применением различных типов ионизирующего излучения. В ходе изучения биораспределения препарата методом ПЦР после внутриопухолевого введения показано, что препарат в течение длительного времени локализуется преимущественно в опухоли и регионарных лимфоузлах и не накапливается в почках и печени.

Таким образом, разработан новый генно-терапевтический препарат, который по результатам доклинических испытаний имеет большой потенциал как в качестве самостоятельной противоопухолевой терапии, так и в качестве дополнения к существующим стандартным методам лечения.

Работа поддержана грантами Президента РФ МК-6185.2015.4 и РФФИ № 16-34-60185 (мол_а_дк)

АНТИФУНГАЛЬНЫЕ МАКРОЛИДНЫЕ АНТИБИОТИКИ ИЗ АКТИНОМИЦЕТНОГО ШТАММА ИНА 18/11

Алфёрова В. А.¹, Новиков Р. А.², Бычкова О. П.¹, Рогожин Е. А.^{1,3},
Прохоренко И. А.^{1,3}, Степашкина Е. А.¹, Шувалов М. В.^{1,4}, Слюндина М. С.^{1,5},
Королев А. М.¹, Федорова Г. Б.¹, Перегудов А. С.⁶, Терехова Л. П.¹, Коршун В. А.¹,
Тренин А. С.¹, Тюрин А. П.^{1,3}

¹"НИИ по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе", Москва, Россия

²Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва, Россия

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

⁴Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

⁵Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева РАН, Москва, Россия

⁶Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, Москва, Россия

В ходе поиска продуцентов антифунгальных антибиотиков отобран актиномицетный штамм ИНА 18/11, обладающий высокой активностью в отношении грибов *Aspergillus niger*. Из культуральной жидкости продуцента с помощью экстракции, осаждения и обращенно-фазовой ВЭЖХ выделены два новых вещества с высокой противогрибковой активностью. Моноизотопные массы соединений составляют 1578,87 и 1594,86 Да, что соответствует брутто-формулам $C_{82}H_{130}O_{29}$ и $C_{82}H_{130}O_{30}$. Строение веществ установлено с помощью корреляционной ЯМР-спектроскопии. Новые антибиотики представляют собой 36-звенные полиольные макролиды, конъюгированные с дезокси-сахарами и хромофором на основе 2-метил-6-замещенного нафтохина; структуры содержат 33 и 34 стереоцентра, соответственно. Макролидная часть содержит карбонильную группу и полукетальный фрагмент.

Комбинация в одной молекуле макролидного и нафтохинонового агликона является весьма редкой; к соединениям данного типа можно отнести лишь аксеномицины [1], соединение GT35 [2], ланколид [3], а также недавно открытые обладающие противоопухолевой активностью антибиотики PM100117/118 [4]. Выделенные нами вещества по структуре весьма близки к последним.

Как макролидный, так и нафтохиноновый агликони являются фармакофорами. Представляет интерес дальнейшее изучение спектра биологической активности новых антибиотиков, а также более углубленное исследование механизма их действия, обусловленного уникальностью химической структуры выделенных соединений. Актуальной задачей является также изучение их биосинтеза.

1. (a) Arcamone F. et al. Axenomycins. I. The structure of chromophore and sugar moieties. *J. Am. Chem. Soc.*, 95 (6), 2008–2009 (1973); (b) Arcamone F. et al. Axenomycins. I. The structure of axenolide. *J. Am. Chem. Soc.*, 95 (6), 2009–2011 (1973)

2. Takahashi I. et al. Fungicidal GT35 manufacture with *Streptomyces*. *Jap. Pat.* 09100290 (1997)

3. Helaly S.E. et al. Langkolide, a 32-membered macrolactone antibiotic produced by *Streptomyces* sp. *Acta 3062. J. Nat. Prod.*, 75 (6), 1018–1024 (2012)

4. (a) Pérez M. et al. PM100117 and PM100118, new antitumor macrolides produced by a marine *Streptomyces caniferus* GUA-06-05-006A. *J. Antibiot.*, in press (doi:10.1038/ja.2015.121)

Секция 2

Механизмы репарации ДНК и их регуляция

ПОЛИ(АДФ-РИБОЗО)ПОЛИМЕРАЗЫ – КЛЮЧЕВЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ ПРОЦЕССОВ РЕПАРАЦИИ ДНК

Лаврик О. И.^{1,2}

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия.*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

Поли(АДФ-рибоза)полимераза 1 (PARP1) – один из наиболее распространенных белков в клетках млекопитающих. PARP1 была открыта как белок, взаимодействующий с разрывами в ДНК. При взаимодействии с поврежденной ДНК PARP1 катализирует синтез и ковалентное присоединение полимера АДФ-рибозы к белкам-акцепторам и к самой PARP1. Этот процесс приводит к изменению взаимодействия белков с ДНК и к реорганизации комплексов, вовлеченных в репарацию повреждений ДНК. PARP1 и процесс поли-АДФ-рибозилирования регулирует множество других клеточных процессов. К настоящему времени открыты новые белки этого семейства PARP2 и PARP3, которые могут катализировать поли- и моно-АДФ-рибозилирование.

Нами было обнаружено, что PARP1 взаимодействует с интермедиатами эксцизионной репарации оснований (BER), содержащими апуриновый/апиримидиновый AP-сайт – одно из наиболее распространенных повреждений геномной ДНК, а также с разрывом ДНК после расщепления AP-сайта. AP-сайты мутагенны, токсичны и образуют ковалентные аддукты с аминокгруппами белков (основание Шиффа). PARP1, взаимодействуя с AP-сайтами, проявляет AP-лиазную и 5'-dRP-лиазную активность. PARP1 влияет на активность AP-эндонуклеазы 1 (APE1) и тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 (TDP1) – ферментов, катализирующих расщепление AP-сайтов. Белок-белковые взаимодействия PARP1 с APE1 и Tdp1 были исследованы с помощью различных методов. Недавно было установлено влияние PARP1 на регуляцию другого важнейшего механизма репарации ДНК – эксцизионной репарации нуклеотидов (NER). Поли-АДФ-рибозилирование белков XPC-RAD23B, XPA и RPA является одним из ключевых механизмов регуляции NER. Будет рассмотрена роль другого фермента семейства PARP – PARP2 в репарации, а также новые мишени поли-АДФ-рибозилирования, катализируемого этими ферментами. Благодаря центральной роли в регуляции различных путей репарации ДНК, PARP1 и PARP2 являются перспективными мишенями для разработки ингибиторов репарации – эффективных противораковых агентов.

Работа поддержана грантами РНФ (14-24-00038) и программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология»

БЕЛОК-БЕЛКОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ УЧАСТНИКОВ ЭКЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ОСНОВАНИЙ ДНК

Моор Н. А., Васильева И. А., Анарбаев Р. О., Лаврик О. И.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

Наиболее многочисленные повреждения ДНК - модифицированные основания, апуриновые/апиримидиновые сайты и одноцепочечные разрывы - исправляются с помощью эксцизионной репарации оснований (ЭРО). Действия ферментов, катализирующих последовательные стадии ЭРО, координируются их взаимодействиями друг с другом и с регуляторными белками. Нами исследованы взаимодействия апуриновой/апиримидиновой эндонуклеазы 1 (APE1), ДНК-полимеразы - (Pol β), тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 (TDP1), белка XRCC1 и поли(ADP-рибозо)полимеразы 1 (PARP1) методами флуоресцентного титрования и FRET. Меченые флуоресцеином и тетраметилпроламином функционально активные белки получены в условиях модификации концевой аминокислоты. Определены равновесные константы диссоциации для четырнадцати комплексов, часть из которых зарегистрирована впервые, что позволило сравнить относительное сродство белков друг к другу. Зарегистрированы тройные комплексы, сформированные только белками или белками и модельными ДНК, имитирующими интермедиаты ЭРО. Сродство белков друг к другу и структура комплексов модулируются ДНК-интермедиатами в различной степени, в зависимости от типа комплекса и ДНК-интермедиата. Измерения гидродинамических радиусов APE1, Pol β , XRCC1 и их комплексов методом статического и динамического светорассеяния (фотон-корреляционной спектроскопии) указывают на преимущественное существование белков и их бинарных комплексов в виде гомо- и гетеродимеров, а тройного комплекса в виде гетеротримера. Стабильность этих комплексов исследована с помощью метода гель-хроматографии с детекцией мульти-углового лазерного светорассеяния (SEC-MALLS). XRCC1 и Pol β образуют самый прочный комплекс, который рассматривается нами как устойчивая часть мультибелкового ансамбля, функционирующего в процессе ЭРО по короткозамкнутому пути и обеспечивающего наиболее эффективную репарацию. Результаты исследований указывают на возможные механизмы регуляции и координации ЭРО посредством изменения сродства белков-участников друг к другу в разных функциональных комплексах [1].

1. Moor, N. A., Vasil'eva, I. A., Anarbaev, R. O., Antson, A. A. and Lavrik, O. I. (2015) Quantitative characterization of protein-protein complexes involved in base excision DNA repair. Nucleic Acids Res., 43, 6009–6022.

Работа выполнена в рамках проекта РНФ 14-24-00038

АКТИВНОСТЬ APE1 НА ПРОМЕЖУТОЧНЫХ СУБСТРАТАХ РЕПАРАЦИИ ТАНДЕМНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ

Дырхеева Н. С.^{1,2}, Sassa A.¹, Çağlayan M.¹, Beard W. A.¹, Freudenthal B. D.¹,
Cuneo M. J.¹, Лаврик О. И.², Wilson S. H.¹

¹National institute of environmental health science, NIH, RTP, NC, USA

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия

Модификации CpG-динуклеотидов являются механизмом контроля экспрессии генов. Одним из типов модификаций является метилирование остатка цитозина. 5-метилцитозин (5-mC) в ДНК дезаминируется с образованием неканонической пары T:G (мисматч). Тимин-ДНК-гликозилаза (TDG) специфично удаляет тимин в составе T:G (продуктом реакции является апуриновый/апиримидиновый (AP) сайт с 5'-стороны от G, APpG). Другой модификацией является окисление остатка G до 7,8-дигидро-8-оксогуанина (8-охоG). 8-охоG может образовывать водородные связи в паре с аденином, и если 8-охоG остается в геноме во время репликации, ДНК-полимеразы ошибочно вставляют A напротив 8-охоG. 8-охоG удаляется специфической ДНК-гликозилазой OGG1 с образованием AP-сайта с 3'-стороны от тимина (TpAP).

Мы изучили влияние AP-эндонуклеазы 1 человека (APE1) на активность TDG и OGG1 на структуре с двойным повреждением Tp8-охоG. APE1 не стимулировала активность OGG1, в отличие от контрольной структуры без 5'-T:G-мисматча. Таким образом, APE1 не способна вытеснить OGG1 при наличии 5'-T:G-мисматча. В результате образуется AP-сайт-содержащая структура TpAP, для которой была исследована активность расщепления AP-сайта с помощью APE1. Скорость расщепления AP-сайта для структуры TpAP была ниже, чем для структуры с канонической CpAP. На структуре Tp8-охоG было показано, что активность TDG значительно повышалась в присутствии APE1, однако для структуры с парой 8-охоG:C стимулирующий эффект был снижен по сравнению с контрольной парой G:C. Таким образом, если TDG первой обрабатывает T:G-мисматч с 3'-8охоG, далее TDG остается связанной с AP-сайт-содержащим продуктом и предотвращает последующее выщепление 8-охоG с помощью OGG1. APE1 способна расщепить AP-сайт в составе APp8-охоG, и репарация далее завершается с помощью ДНК-полимеразы и ДНК-лигазы. В результате в структуре ДНК остается пара 8-охоG:C, которая может быть исправлена с помощью OGG1.

Поскольку присутствие T:G-мисматча с 5'-стороны от AP-сайта значительно снижало скорость реакции, катализируемой APE1, было интересно определить, как сказывается наличие 5'-T:G-мисматча на геометрии связывания ДНК в активном центре APE1. С помощью рентгеноструктурного анализа были получены структуры комплексов AP-сайт-содержащих ДНК с APE1. Была получена структура комплекса неактивного двойного мутанта APE1 (E96Q D210N) с нерасщепленным ДНК-субстратом с T:G-мисматчем с 5'-стороны от AP-сайта, а также структура комплекса APE1 с аналогичным ДНК-продуктом эндонуклеазного расщепления.

Работа поддержана Российским научным фондом, проект № 14-14-00501

ИНФОРМАЦИЯ В ДНК И ЕЕ АКТУАЛИЗАЦИЯ В ЖИВЫХ СИСТЕМАХ: ПРОБЛЕМЫ ЧТЕНИЯ ТЕКСТА НА МОЛЕКУЛЯРНОМ УРОВНЕ

Жарков Д. О.^{1,2}

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

Установление ныне общеизвестных принципов комплементарности оснований ДНК и однозначного триплетного генетического кода в середине XX в. произвело революцию в биологии и позволило создать новую науку – биоинформатику, которая опирается на рассмотрение последовательностей ДНК, РНК и белков как текстов, составленных из ограниченного набора канонических символов (нуклеотидов или аминокислот). Однако такое представление оказывается совершенно непригодным в приложении к молекулярным процессам, связанным с узнаванием последовательностей ДНК, а тем более с узнаванием элементов, отличных от канонических символов. Последовательность ДНК или неканонические элементы в ней узнаются ДНК-зависимыми белками в ходе конформационно сложных взаимодействий между отдельными функциональными группами белка и нуклеиновой кислоты, в результате чего информация, «записанная» в последовательности ДНК и доступная для белков, может намного превышать шенноновскую информацию текста. Такая биохимически доступная информация оказывается функцией как последовательности или структуры ДНК, так и конформационного пространства, доступного читающему ДНК белку.

В работе рассматриваются механизмы извлечения биохимически доступной информации на примере двух систем ДНК-зависимых белков: эндонуклеаз рестрикции, узнающих определенные последовательности ДНК, и ДНК-гликозилаз, узнающих неканонические основания в составе ДНК. Показано, что значительным фактором, определяющим действие таких систем, является снижение вероятности ошибок первого рода (ложнопозитивного узнавания). Рассмотрены проблемы кинетического контроля извлечения информации при ДНК-белковых взаимодействиях и роль конформационного ландшафта в этом процессе.

Работа поддержана грантами РНФ 14-24-00093 и РФФИ 14-04-01879-а

КИНЕТИЧЕСКИЕ И ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМОВ УЗНАВАНИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК ФЕРМЕНТАМИ РЕПАРАЦИИ

Кузнецов Н. А., Федорова О. С.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

Повреждение ДНК и накопление мутаций в процессе жизни, как за счет внутренних сбоев метаболизма, так и за счет внешних факторов, таких как повышенный уровень загрязнения окружающей среды, ультрафиолетовое и ионизирующее излучение, действие токсических веществ, приводят к преждевременному старению, ускоренному развитию дегенеративных процессов организма, опухолевой трансформации клеток и ряду заболеваний.

Одной из актуальных задач в области репарации ДНК является выяснение механизмов ферментативных процессов эксцизионной репарации оснований с участием ДНК-гликозилаз и AP-эндонуклеаз, которые обеспечивают высокоточное узнавание поврежденных нуклеотидов в ДНК и их эффективное удаление, тем самым играя важную роль в обеспечении стабильного функционирования ДНК и жизнедеятельности клетки.

Основной целью данной работы являлось определение молекулярно-кинетических механизмов поиска и удаления повреждений в процессах, катализируемых про- и эукариотическими ДНК-гликозилазами и AP-эндонуклеазами и выявление общих закономерностей специфического узнавания повреждений ДНК и образования каталитически активных комплексов. Поскольку изменение структуры взаимодействующих молекул происходит в миллисекундном диапазоне времени, для изучения этих изменений использовали метод остановленного потока. Изменения конформации ферментов и ДНК-субстратов в ходе ферментативной реакции регистрировали по изменению интенсивности флуоресценции соответствующих молекул. Для регистрации конформационных переходов ферментов проводили регистрацию изменений интенсивности флуоресценции остатков триптофана, входящих в состав белков. Для регистрации конформационных изменений ДНК-субстратов проводили скрининг флуоресцентных свойств аналогов нуклеотидов при их расположении с 5'- и 3'-стороны от повреждения либо при расположении в комплементарной цепи напротив повреждения. На основании сравнительно анализа модельных субстратов в экспериментах остановленного потока использовали лучший вариант, обладающий максимальной чувствительностью к конформационным изменениям в ДНК при взаимодействии с конкретным ферментом.

На основании полученных данных установлены механизмы узнавания поврежденных участков ДНК важнейшими ферментами репарации человека и *E. coli* и определены ключевые стадии ферментативных процессов, обеспечивающие высокую субстратную специфичность и ответственные за дискриминацию поврежденных нуклеотидов. Кроме того, детализирована и дополнена функциональная роль различных аминокислотных остатков активного центра ферментов, участвующих как в узнавании повреждения, так и в каталитических стадиях.

*Работа поддержана грантами РФФИ (16-04-00037, 15-04-00467 и 15-34-20121),
МКБ 6.11 и РНФ 16-14-10038*

**УЗНАВАНИЕ 5,6-ДИГИДРОУРАЦИЛА В ДНК AP-ЭНДОНУКЛЕАЗАМИ
APE1 ЧЕЛОВЕКА И APN1 ИЗ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*:
МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИНАМИКА ФЕРМЕНТ-СУБСТРАТНЫХ
КОМПЛЕКСОВ**

Ломзов А. А., Коваль В. В.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия
Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
Новосибирск, Россия*

Участие AP-эндонуклеаз в процессах инцизионной репарации нуклеотидов (NIR) является биологически значимым путем репарации окислительных повреждений оснований ДНК. Данный белок расщепляет дуплексы, содержащие остатки 5-гидроксиурацила (5ohU), 5,6-дигидроурацила (DHU) и 5,6-дигидротимина (DHT).

С целью выяснить, какие аминокислотные остатки в активных центрах ферментов APE1 человека и Apn1 из *S. cerevisiae* участвуют в узнавании остатка DHU в ДНК, мы провели молекулярное моделирование по методу молекулярной динамики комплексов ферментов с ДНК-дуплексом, содержащим 5,6-дигидроурацил.

Для фермента Apn1 провели молекулярно-динамическую симуляцию фермент-субстратных комплексов содержащих дуплексы 5,6-DHU-(2-aPu), (2-aPu)-5,6-DHU и три иона Zn^{2+} . ДНК содержала остаток 5,6-дигидроурацила и остаток флуорофора 2-аминопурина, расположенный рядом с ним.

Показано, что остаток 5,6-DHU, вывернутый из спирали ДНК и помещённый в активный центр фермента, не меняет существенно своего положения. Такая стабилизация вызвана образованием водородной связи между 5,6-DHU и аминокислотой Asn-279.

На основании анализа результатов моделирования можно заключить, что в APE1 человека в узнавании DHU участвуют аминокислоты Asn-212, Val-213, Leu-282. Расположение гетероциклического основания DHU в узкой глубокой полости активного центра Ape1 и образование водородной связи между атомом N3 DHU и кислородом в Thr-233 позволяет утверждать, что вывернутый из двойной спирали ДНК остаток DHU специфически узнается и связывается ферментом.

Для двух AP-эндонуклеаз – APE1 человека и Apn1 из *S. cerevisiae* – получены структурные характеристики узнавания остатка 5,6-дигидроурацила в ДНК; определены аминокислоты, участвующие в образовании каталитически активных комплексов.

Работа поддержана РФФИ (14-04-00806) и Министерством образования и науки РФ (Конкурс совместных лабораторий НГУ – ННЦ СО РАН)

Работа выполнена в Лаборатории структурной биоинформатики и молекулярного моделирования НГУ с использованием вычислительных мощностей Сибирского суперкомпьютерного центра СО РАН www2.sccc.ru

ИНГИБИТОРЫ ТИРОЗИЛ-ДНК-ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ 1 – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АНТИРАКОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Захаренко А. Л.¹, Волчо К. П.^{2,3}, Лузина О. А.², Хоменко Т. М.^{2,3}, Суслов Е. В.²,
Захарова О. Д.¹, Рейниссон Й.⁴, Салахутдинов Н. Ф.^{2,3}, Лаврик О. И.^{1,3}

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский институт органической химии им. Ворожцова,
Новосибирск, Россия*

³*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

⁴*Университет Окленда, Окленд, Новая Зеландия*

Тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1 (TDP1) – перспективная мишень для противоопухолевой терапии, основанной на повреждении опухолевой ДНК, вызванном ингибиторами топоизомеразы 1 (Top1) [1,2]. TDP1 играет ведущую роль в репарации ковалентных комплексов Top1-ДНК, образовавшихся под воздействием ингибиторов Top1, таких как камптотecin и его клинические производные [2]. Предположительно, ингибирование TDP1 может усилить терапевтический эффект ингибиторов Top1 [3,4]. Нами был синтезирован и протестирован ряд новых типов ингибиторов TDP1, относящихся к разным химическим классам.

Величины IC₅₀ (концентрация ингибитора, при которой активность фермента снижена наполовину) для соединений класса бензопентатиепинов составили от 0,2 до 6,0 мМ. Исследование цитотоксичности этих соединений показало, что они обладают умеренной токсичностью и вызывают апоптотическую гибель клеток линий MCF-7 и Hep G2 [5]. Другой класс ингибиторов TDP1, диазаадамантаны, оказались менее эффективны в отношении очищенного фермента (IC₅₀ около 15 мМ) [6], но соединения этого класса не токсичны в отношении опухолевых клеток в концентрациях до 100 мМ. Отсутствие собственной цитотоксичности является важным преимуществом при совместном использовании соединений с клиническими производными камптотецина.

Производные 7-гидроксикумарина, содержащие ароматический или монотерпеновый заместитель, оказались также достаточно эффективными ингибиторами TDP1 с величинами IC₅₀ около 1 мМ. Эти соединения нетоксичны в отношении клеток MCF-7 (CC₅₀ > 100 мМ) и способны в концентрации 5 мМ усиливать цитотоксичность камптотецина в отношении опухолевых клеток до 10 раз. Ингибирующую активность в диапазоне концентраций от 1 до 15 мМ проявили также производные природного соединения усниновой кислоты (УК). Обнаружено, что структурные модификации УК введением цианогрупп приводят как к усилению воздействия на очищенный фермент, так и к снижению цитотоксичности.

Таким образом, разработаны ингибиторы TDP1, перспективные для увеличения эффективности противораковой терапии, основанной на клинических ингибиторах Top1.

1. Cortes Ledesma F. et al., *Nature*, 2009, 461, 674-678.
2. Comeaux E. Q. and van Waardenburg R. C. *Drug Metab. Rev.* 2014, 46, 494-507.
3. Pommier Y. et al., *Chem. Biol.* 2010, 17, 421-433.
4. Pommier Y. *Nat. Rev. Cancer.* 2006, 6, 789-802.
5. Zakharenko A. et al., *Bioorg. Med. Chem.* 2015, 23, 2044-2052.
6. Захаренко А. Л. и др., *Биоорг. Хим.* 2015, 41, 731-736.

Проект поддержан грантом РФФ 16-13-10074

ЭКСЦИЗИОННАЯ РЕПАРАЦИЯ НУКЛЕОТИДОВ: СТРУКТУРНЫЕ ОСНОВЫ РАСПОЗНАВАНИЯ ОБЪЕМНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ

Евдокимов А. Н.¹, Попов А. В.¹, Петрусева И. О.¹, Лаврик О. И.^{1,2,3}

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины,
Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

³*Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия*

Система эксцизионной репарации нуклеотидов млекопитающих (NER) удаляет из состава ДНК широкий спектр объемных повреждений. При этом эффективность удаления повреждений с различной структурой может отличаться на несколько порядков. Вопрос о том, как связаны структура повреждения ДНК и эффективность его удаления, привлекает внимание значительного числа исследователей.

Модельные ДНК-структуры, которые имитируют субстраты и интермедиаты NER, широко используются для изучения этой системы в экспериментах *in vitro*. Настоящая работа посвящена изучению свойств нескольких модельных ДНК, содержащих объемные повреждения с различной структурой. Модельные ДНК были получены с использованием модифицированных нуклеотидов, а также ненуклеозидных реагентов.

Было исследовано влияние введения объемного аддукта на температуру плавления и угол изгиба ДНК-дуплекса, а также сродство к содержащим повреждение модельным ДНК белка ХРС, выполняющего в процессе NER роль сенсора повреждения. Ожидалось, что указанный ряд характеристик будет однозначно определять и субстратные свойства модельных ДНК. Однако при исследовании эффективности удаления объемных повреждений из состава ДНК субстратные свойства некоторых модельных ДНК заметно отличались от прогнозируемых в ту или иную сторону. Для того, чтобы выявить структурные основы этого явления, была проведена симуляция молекулярной динамики модельных ДНК.

Были обнаружены несколько интересных особенностей структуры модельных ДНК, в частности несколько областей дестабилизации регулярной двуцепочечной структуры ДНК-дуплекса. Также было предложено возможное объяснение влияния таких областей дестабилизации на эффективность узнавания и репарации повреждений в процессе NER.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 14-24-00038

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПУТЕЙ РЕПАРАЦИИ В ПРОЦЕССЕ АКТИВНОГО ДЕМЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК

Грин И. Р.^{1,2}, Ищенко А. А.³

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

³*CNRS, UMR 8200, Institut de Cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France*

В клетках млекопитающих процесс эпигенетического репрограммирования включает активное деметилирование ДНК с окислением и/или дезаминированием 5-метилцитозина (5mC), катализируемое комплексами белков ТЕТ и AID/APOBEC соответственно. Молекулярный механизм активного деметилирования ДНК остается невыясненным, но имеются свидетельства того, что процесс может протекать с участием репарации ДНК. Например, удаление и замещение производных 5mC инициируется некоторыми ДНК-гликозилазами в ходе эксцизионной репарации оснований. Но при этом возникает вопрос, как клеткам удастся избегать генотоксического стресса при быстром накоплении интермедиатов репарации. Недавно было показано, что неканоническая репарация гетеродуплексов может принимать участие в репарации окислительных повреждений ДНК, при этом вновь синтезируется протяженный участок ДНК.

В данной работе были сконструированы фагмидные ДНК субстраты, содержащие производные 5mC и метилированные метки для поиска и оценки вклада разных путей репарации в деметилирование ДНК в клеточных экстрактах млекопитающих. Мы продемонстрировали, что производные 5mC могут напрямую или опосредованно репарироваться как неканонической репарацией гетеродуплексов, так и эксцизионной репарацией оснований. Более того, увеличение числа производных 5mC в промоторной области эпигенетически подавленного репортерного гена приводило к реактивации его экспрессии в мышечных клетках. Полученные данные подтверждают совместное действие эксцизионной репарации оснований и неканонической репарации гетеродуплексов в процессе удаления множественных нестандартных пар оснований для завершения процесса активного деметилирования ДНК в клетках млекопитающих.

Работа поддержана грантом РФФ 14-24-00093

DNA POLYMERASE IOTA AS ONE OF THE PARTICIPANTS OF CLUSTERED DAMAGE REPAIR

Belousova E. A., Lavrik O. I.

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk, Russia

Multiple DNA lesions occurring within one or two turns of the DNA helix known as clustered damage are a source of double-stranded DNA breaks, which represent a serious threat to the cells. Repair of clustered lesions is accomplished in several steps. If a clustered lesion contains oxidized bases, an individual DNA lesion is repaired by the base excision repair mechanism (BER). One of the BER stages involves specialized DNA polymerases after excision of DNA damage. Here, we investigated DNA synthesis catalyzed by DNA polymerase iota using damaged DNA templates. Two types of DNA substrates were used as model DNAs: partial DNA duplexes containing breaks of different length, and DNA duplexes containing 5-formyluracil (5-foU) and uracil as a precursor of apurinic/apyrimidinic (AP) sites in opposite DNA strands.

For the first time, we have shown that DNA polymerase iota is able to catalyze DNA synthesis using partial DNA duplexes having breaks of different length as substrates. In addition, we found that DNA polymerase iota could catalyze DNA synthesis during repair of clustered damage via the BER system by using both undamaged and 5-foU-containing templates. We found that hPCNA (human proliferating cell nuclear antigen) acting here as a replication protein increased efficacy of DNA synthesis catalyzed by DNA polymerase iota.

This study was supported by the Russian Foundation for Basic Research № 14-04-00268

РЕПАРАЦИЯ КЛАСТЕРНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК С УЧАСТИЕМ БЕЛКОВ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ОСНОВАНИЙ И НУКЛЕОТИДОВ

Речкунова Н. И., Старостенко Л. В., Лебедева Н. А., Коваль В. В., Ломзов А. А., Лаврик О. И.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

В результате комбинированного действия реакционноспособных метаболитов бенз[а]пирена (BP) и окислительного стресса в ДНК могут возникать кластерные повреждения, содержащие одновременно объемные химические аддукты и апуриновые/апиридиновые (AP) сайты. Исправление таких повреждений требует координированного действия двух систем эксцизионной репарации ДНК, нуклеотидов (ЭРН) и оснований (ЭРО) соответственно, для предотвращения возникновения в ДНК двухцепочечных разрывов. С использованием модельных ДНК исследована репарация AP-сайта в составе кластера с (+)cis- или (+)trans-BPDE-N²-dG (BP-dG) с помощью ферментов ЭРО: AP-эндонуклеазы 1 (APE1) и ДНК-полимераз β (Pol β), λ (Pol λ) и ι (Pol ι), а также взаимодействие с такими ДНК факторами ЭРН и их влияние на эффективность гидролиза AP-сайта. Показано, что эффективность гидролиза AP-сайта, катализируемого APE1, зависит в большей степени от положения относительно BP-dG, чем от изомерной формы последнего. Скорость гидролиза AP-сайта напротив модифицированного основания или в положении -1 (сдвинут на один нуклеотид в 5'-направлении цепи) незначительно отличалась от контрольной ДНК без BP-dG, тогда как сдвиг AP-сайта в 3'-направлении (положение +) значительно снижал эффективность его гидролиза. Скорость гидролиза была выше в присутствии trans-изомера для всех исследованных ДНК за исключением ДНК AP+3-BP. Проведенное методом молекулярной динамики моделирование комплекса APE1 с ДНК показало, что в дуплексе AP₊₃-BP остаток BP располагается в области изгиба ДНК-спирали, возникающего при связывании ДНК ферментом, и непосредственно контактирует с аминокислотами активного центра и каталитически важным ионом Mg²⁺. В этом дуплексе trans-конфигурация BP-dG существенно нарушает геометрию активного центра APE1, т.к. массивный остаток BP внедряется в структуру комплекса APE1 с ДНК в области расщепляемой фосфодиэфирной связи с 5'-конца от AP-сайта, тем самым затрудняя его гидролиз. Показано, что XPC-RAD23B – фактор ЭРН, отвечающий за первичное узнавание повреждения, – стимулирует эндонуклеазную и ингибирует 3'-5'-экзонуклеазную активность APE1.

Исследована способность Pol β , Pol λ и Pol ι катализировать реакцию заполнения бреши, возникающей после гидролиза AP-сайта, напротив BP-dG. Показано, что при определенных условиях (комбинация ионов Mg²⁺/Mn²⁺ и низкой ионной силы) Pol β и Pol ι катализируют ошибочное включение любого нуклеотида напротив обоих изомеров BP-dG, тогда как Pol λ селективно включает комплементарный dCMP напротив cis-изомера, что позволяет предположить ключевую роль Pol λ в репарации такого рода повреждений.

Работа поддержана РНФ (грант 14-14-00501) и РФФИ (грант 14-04-00268)

ДНК С ОБЪЕМНЫМИ ЗАМЕСТИТЕЛЯМИ КАК ИНСТРУМЕНТ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССА ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ НУКЛЕОТИДОВ

Петрусева И. О. ¹, Лукьянчикова Н. В.^{1,2}, Евдокимов А. Н. ¹, Лаврик О. И.^{1,2,3}

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

³*Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия*

Система эксцизионной репарации нуклеотидов (ЭРН) распознает и удаляет разнообразные по структуре объемные повреждения, искажающие регулярную двуспиральную структуру ДНК – модификации азотистых оснований, возникающие в результате воздействия УФ и гамма-излучения, а также химически активных веществ, в том числе химиотерапевтических препаратов. Известно, что широкая субстратная специфичность ЭРН определяется механизмом распознавания поврежденных участков комплексами сенсорных белков. Однако драматические различия в скоростях удаления повреждений, характерные для процесса ЭРН, далеко не во всех случаях нашли свое объяснение. Знание деталей механизма ЭРН и структурных характеристик поврежденной ДНК, определяющих скорость репарации, представляет огромный научный и практический интерес. Актуальность таких исследований обусловлена расширением спектра факторов, неблагоприятно воздействующих на геном человека. Кроме того, большинство используемых в клинике противоопухолевых агентов также реализуют свою цитотоксичность, повреждая ДНК. Однако вследствие широкой субстратной специфичности, характерной для репаративной машины ЭРН, белки репарации препятствуют сохранению этих повреждений в ДНК, а следовательно, и лечебному действию препаратов. Таким образом, понимание механизмов функционирования белковых комплексов и возможность оперативной оценки функционального статуса системы ЭРН с использованием модельных ДНК, входят в перечень условий успешного дизайна препаратов для химиотерапии онкологических заболеваний.

Результаты проведенного нами анализа свойств ряда модельных ДНК-аналогов субстрата ЭРН, содержащих ненуклеозидные звенья nAnt и nFlu, фторхлоразидопиридинные и фторазидобензоильные производные dC и dU, и их взаимодействия с белками системы ЭРН указывают на большой вклад этапа верификации повреждения в скорость его удаления из ДНК.

Выраженные субстратные свойства ряда синтетических ДНК позволяют оценивать специфическую эксцизионную активность в клеточных и тканевых экстрактах. Мы полагаем, что дальнейшее развитие наших работ позволит разработать метод оценки статуса системы ЭРН эукариот как *in vitro*, так и *in vivo*, который позволит проводить измерения на эпидемиологическом уровне. Это приведет к более глубокому пониманию роли данной репаративной системы в проявлении онкологических и других патологий.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-24-00038

ИЗУЧЕНИЕ КОРОТКОЖИВУЩИХ КОМПЛЕКСОВ СИСТЕМЫ РЕПАРАЦИИ МИСМАТЧЕЙ E. COLI С ПОМОЩЬЮ ФИКСАЦИИ БЕЛКА MUTS НА ДНК

Монахова М. В.¹, Рязанова А. Ю.¹, Кубарева Е. А.¹, Фридрихс П.²

¹Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Институт биохимии, Университет имени Ю. Либиха, Гиссен, Германия

Система репарации неканонических пар или мисматчей, получившая название MMR (от англ. Mismatch repair system), исправляет ошибки, допущенные полимеразой при репликации ДНК. Одним из основных белков системы репарации является MutS, который узнает и связывает ДНК в месте нахождения мисматча. После связывания АТФ MutS изменяет конформацию и взаимодействует со следующим участником системы репарации – белком MutL. Комплексы белков репарации с ДНК являются конформационно подвижными, что затрудняет их изучение.

Для решения этой проблемы нами был предложен метод получения конъюгата моноцистеиновой формы белка MutS с модифицированной ДНК, содержащей в 5-ом положении остатка тимидина пиридилдитиогруппу на линкерах различной длины. Также был разработан способ очистки конъюгата, позволяющий сохранять способность MutS в его составе сгибать и разгибать ДНК [1].

В данной работе в гомогенном состоянии получены конъюгаты мутантных форм MutS(N497C) и MutS(A336C) с ДНК. В первом случае ДНК зафиксирована в области MutS, сближенной с ДНК, но не участвующей в распознавании мисматча, во втором – в полости, формирующейся при изменении конформации белка на «скользящий зажим». Методом FRET показана способность выделенных комплексов MutS-ДНК взаимодействовать с MutL. Однако MutL с большей скоростью и более эффективно связывается с MutS(N497C) в составе конъюгата по сравнению с MutS(A336C)-ДНК. Таким образом, показано, что комплекс MutS(N497C)-ДНК является предпочтительным для привлечения MutL и дальнейшей активации всей системы MMR.

Изучена кинетика образования комплекса MutL с MutS в составе конъюгата для разных конформационных состояний белка MutL («открытая» и «закрытая» формы). Продemonстрировано, что скорость образования тройного комплекса MutL-MutS-ДНК и его количество зависят не только от места сшивки MutS с ДНК, но и от длины линкера между белком и ДНК. Предложенный подход позволяет выяснить положение ДНК относительно MutS и MutL в тройном комплексе на определенной стадии функционирования системы репарации.

1. Monakhova M., Ryazanova A., Hentschel A., Viryasov M., Oretskaya T., Friedhoff P., Kubareva E., *J. Chromatography A.*, 2015, 1389, 19-27.

Работа проводилась при поддержке гранта РФФИ (№ 16-04-00575)

ВЛИЯНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНОГО СПЛАЙСИНГА ПО ВТОРОМУ ЭКЗОНУ НА ДНК-ПОЛИМЕРАЗНУЮ И ДРФ-ЛИАЗНУЮ АКТИВНОСТИ ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ ЙОТА

Казаченко К. Ю., Миропольская Н. А., Генинг Л. В., Тарантул В. З., Макарова А. В.

Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

Специализированная ДНК-полимераза йота (Pol iota) Y-семейства обладает как ДНК-полимеразной, так и дРФ-лиазной активностями, участвуя в репликации через повреждения и в эксцизионной репарации оснований. Мыши линии 129/J часто используются для исследований функций Pol iota, поскольку содержат стоп-кодон во втором экзоне гена POLI, что приводит к синтезу укороченного нефункционального белка. Однако мы обнаружили, что в организме мышей линии 129/J происходит альтернативный сплайсинг мРНК Pol iota с вырезанием второго экзона и восстановлением рамки считывания. Мы выделили и исследовали свойства Pol iota мыши без второго экзона. Было показано, что делеция второго экзона приводит к потере ДНК-полимеразной активности в присутствии ионов Mg^{2+} в качестве кофактора ДНК-полимеразной реакции. Однако слабая ДНК-полимеразная активность сохраняется в присутствии ионов Mn^{2+} . Было также обнаружено, что альтернативный сплайсинг по второму экзону не приводит к потере дРФ-лиазной активности Pol iota. Полученные данные не позволяют рассматривать мышей линии 129/J в качестве аналога модели нокаута Pol iota.

Исследование выполнено при поддержке программы Президиума РАН МКБ «Новые группы», РФФИ 15-04-08398 и фонда Д. Зимины «Династия»

COMPARATIVE INVESTIGATION OF INTERACTION OF PARP-1 AND PARP-2 WITH APURINIC/APYRIMIDINIC DNA

Kutuzov M. M.^{1,3}, Khodyreva S. N.^{1,3}, Ame J. C.², Sukhanova M. V.¹, Ilina E. S.^{1,3}, Schreiber V.², Lavrik O. I.^{1,3}

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Institut de Recherche de l'École de Biotechnologie de Strasbourg, France*

³*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

The apurinic/apyrimidinic (AP) site is considered to be a common lesion in genomic DNA, arising at a frequency of about 10,000 lesions per mammalian cell per day. If unrepaired, AP sites present mutagenic and cytotoxic consequences to the cell. The number of AP sites can increase dramatically under stressful conditions such as X-ray or UV light irradiation and alkylating agent exposure. In mammalian cells, the repair of AP sites is generally processed via functioning base excision repair (BER) system. One of the key regulatory proteins in BER is PARP 1. Its role in response to DNA damage has been widely illustrated, the contribution of another DNA-dependent PARP, PARP-2, has not been studied in details.

In this work we studied interaction of PARP-2, the closest homolog of PARP-1, with AP sites and some BER proteins taking part in their processing. We demonstrated the capability of PARP-2 to interact with AP sites forming stable complexes PARP-2-AP DNA. The repair of AP sites in canonical BER is initiated through hydrolysis by AP endonuclease 1 (APE1) or β -elimination via the activity of DNA glycosylases and other enzymes with associated AP lyase activity. PARP-1 possesses the 5'-dRP/AP lyase activity. In contrast, PARP-2 is unable to cleave AP sites, but like PARP-1, it displays the 5'-dRP lyase activity. PARP-1 and PARP-2, although to a lesser extent, are able to inhibit the APE1 activity, with inhibition being regulated by poly(ADP-rybosyl)ation. Like PARP-1, PARP-2 interferes with the activity of downstream BER enzymes – DNA polymerase β and flap endonuclease 1.

Taken together, our results testify to probable additional regulation of BER by PARP-2. Study of the mechanisms of PARPs involvement in BER can be essential for developing new drugs for selective inhibition of these proteins.

This work was partially supported by Russian Scientific Foundation project № 14-14-00501

CHEMICAL SYNTHESIS OF MONO-ADP-RIBOSYLATED PEPTIDES AND OLIGO-ADP-RIBOSE CHAINS

Kistemaker H. A. V., Overkleeft H. S., van der Marel G. A., Filippov D. V.

Leiden Institute of Chemistry, Leiden University, Leiden, The Netherlands

The key role of ADP-ribosylation in various cellular processes is now well established [1]. However, the present level of understanding of the molecular details of ADP-ribosylation is still limited. I am convinced that the availability of synthetic well-defined ADP-ribosylated biomolecules is indispensable if one wishes to understand this process in depth. I present synthetic strategies towards the preparation of mono-ADP-ribosylated peptides [2] and oligo-ADP-ribose [3]. These synthetic well defined compounds become increasingly useful as molecular tools to uncover the yet unknown aspects of the native ADP-ribosylation.

I discuss the solid phase synthesis of mono-ADPr-peptides and that of well-defined oligo-ADPr-chain with particular focus on the most prominent challenges of the chemical ADP-ribosylation. These are: synthesis of ribofuranosylated aminoacids [4], solid phase assembling of poly-pyrophosphate chain and the preparation of hyper-glycosylated adenosine building blocks. Our approach to the construction of the branched ADPr-chains are also discussed [5].

1. Ryu, K. W.; Kim, D. S.; Kraus, W. L., *Chem. Rev.* 2015, 115, 2453.

2. van der Heden van Noort, G. J.; van der Horst, M. G.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Filippov, D. V., *J. Am. Chem. Soc.* 2010, 132, 5236.

3. Kistemaker, H. A. V.; Lameijer, L. N.; Meeuwenoord, N. J.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Filippov, D. V., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2015, 54, 4915.

4. Kistemaker, H. A. V.; van der Heden van Noort, G. J.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Filippov, D. V., *Org. Lett.* 2013, 15, 2306.

5. Kistemaker, H. A. V.; Overkleeft, H. S.; van der Marel, G. A.; Filippov, D. V., *Org. Lett.* 2015, 17, 4328.

Секция 3
Биомедицинская химия

IMMUNOGENICITY OF DAMAGED DNA AND PROTEINS BY ADVANCED GLYCATION END-PRODUCTS (AGES): A PROBABLE BIO-MARKER FOR THE AUTO-IMMUNE DISEASES

Ahmad S.^{1,2}, Khan M. S.², Khan M. S.², Ansari A.^{1,2}

¹*Integral Research Centre-I, Integral University, Lucknow, India.*

²*Integral University, Lucknow, India.*

Immunogenicity is the ability of a particular substance, such as an antigen or epitope, to provoke an immune response in the body of a human or an animal. There has been a recent development in the study of the immunologic behaviour of the modified DNA and proteins in the induction and furtherance of immunogenicity [1].

Our Research group has shown that advanced glycation end-products (AGEs) plays a major role in the structural perturbations of DNA, LDL and as well as HSA biological macromolecules [2]. Glucose reacts non-enzymatically with protein amino groups to initiate glycation, the early stage of the Maillard reaction and forms AGEs [3-4]. The AGEs thus formed has several roles in the development of pathological conditions like, diabetes mellitus, arthritis and aging. Recently, the role of carbonyl species modified human placental DNA in the induction of circulating cancer auto-antibodies has also been reported [5]. Therefore, in my opinion the auto-antibodies against the damaged DNA might be used for the early detection of the disease, caused by reactive species.

1. Imteyaz M., Ahmad S., Moinuddin. *Preferential recognition of methylglyoxal modified calf thymus DNA by circulating autoantibodies in cancer patients. Ind Journal of Biochem and Biophys.* 2011; 48: 290-296.

2. Ahmad S., Khan M. S., Akhter F., Khan M. S., Khan A., Ashraf J. M. et al. *Glycooxidation of biological macromolecules: A critical approach to halt the menace of glycation. Glycobiology.* 2014; 24: 979-990.

3. Akhter F., Khan M. S., Shahab U., Moinuddin, Ahmad S. *Bio-physical characterization of ribose induced glycation: a mechanistic study on DNA perturbations. Int J Biol Macromol.* 2013; 58: 206-210.

4. Ahmad S., Akhter F., Moinuddin, Shahab U., Khan M. S. *Studies on glycation of human low density lipoprotein: a functional insight into physico-chemical analysis. Int J Biol Macromol.* 2013; 62: 167-171.

5. Shahab U., Tabrez S., Khan M. S., Akhter F., Khan M. S., Saeed M. et al. *Immunogenicity of DNA-advanced glycation end product fashioned through glyoxal and arginine in the presence of Fe³⁺: its potential role in prompt recognition of diabetes mellitus auto-antibodies. Chemico Biol Int.* 2014; 219; 229-240.

КАК ИНДУЦИРОВАТЬ НАРАБОТКУ АНТИТЕЛ ЗАДАННОЙ СТРУКТУРЫ И КАК ЭТО МОЖЕТ БЫТЬ ПОЛЕЗНО ДЛЯ СОЗДАНИЯ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИЧ?

Таранин А. В.^{1,2}, Баранов К. О.¹, Волкова О. Ю.¹, Горчаков А. А.^{1,2},
Гусельников С. В.^{1,2}, Кулемзин С. В.¹, Наякшин А. М.¹, Сократян А. М.¹,
Черникова Д. С.², Чикаев Н. А.¹

¹*Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

Создание эффективной вакцины против ВИЧ в течение нескольких десятков лет остается наиболее актуальной задачей инфекционной иммунологии. Используемые до сих пор иммуногены не индуцируют антитела, способные нейтрализовать широкое разнообразие вариантов вируса. Тем не менее, антитела широкого спектра действия, получившие название «broadly neutralizing antibodies» (bnAb), были обнаружены на поздних этапах ВИЧ-инфекции у некоторых пациентов. Поскольку профилактическое введение bnAb предотвращает инфекцию, их индукция в настоящее время считается главной целью при создании вакцины против ВИЧ. В основе bnAb лежат относительно редкие комбинации наследуемых (зародышевых) V-генов человека. При этом, сами по себе зародышевые предшественники bnAb (GL-bnAb) плохо распознают ВИЧ-антигены и не индуцируются ими. Приобретение способности нейтрализовать ВИЧ связано с накоплением большого количества мутаций (от 12 до 40%), в результате множественных реактиваций соответствующих В-клеток.

Таким образом, для индукции bnAb используемые иммуногены должны: 1) стимулировать наивные В-клетки, несущие GL-bnAb, 2) обеспечивать соматический мутагенез генов иммуноглобулинов в направлении созревания bnAb и 3) минимизировать индукцию антител против изменчивых штамм-специфичных эпитопов ВИЧ. Мы предполагаем, что таким условиям наиболее удовлетворяют антиидиотипические агенты и что использование серии антиидиотипов, направленных против GL-bnAb и промежуточных вариантов созревания bnAb, позволит подготовить необходимую степень соматического мутагенеза V-генов для генерации bnAb при бустерной иммунизации ВИЧ-антигенами. В качестве антиидиотипических агентов целесообразно использовать искусственные аналоги антител на основе каркаса 10-го FnIII-домена (Fn3) фибронектина человека. Мы полагаем, что на базе мультидоменных антиидиотипических Fn3-белков может быть создана универсальная платформа для индукции и направленного аффинного созревания ВИЧ-специфичных bnAb.

В рамках проекта по проверке этой концепции получены следующие результаты: сконструирована комбинаторная библиотека Fn3-доменов в двух форматах, предназначенных для скрининга методами фагового и рибосомного дисплея; созданы сенсорные В-клеточные линии, несущие мембранные формы зародышевых предшественников VRC01 и 10E8 - двух наиболее эффективных классов bnAb; показано, что петлевые участки Fn3-доменов в составе искусственных гомо- и гетероолигомеров эффективно стимулируют специфичный иммунный ответ у мышей.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИОФАГОВ: НАСТОЯЩЕЕ ФАГОТЕРАПИИ И БУДУЩИЕ СТРАТЕГИИ

Власов В. В.¹, Тикунова Н. В.¹, Морозова В. В.¹, Козлова Ю. Н.¹, Ганичев Д. А.²

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия;*

²*Дорожная клиническая больница на ст. Новосибирск-Главный ОАО «РЖД»,
Новосибирск, Россия*

В последние годы наблюдается всё более широкое распространение инфекционных заболеваний, вызванных лекарственно-резистентными бактериями. В связи с этим во многих странах повысился интерес к разработке альтернативных средств антимикробной терапии. Антимикробные свойства бактериофагов, которые зачастую оказываются эффективными против бактерий с множественной лекарственной устойчивостью, открывают большие возможности для их применения в случае различных инфекций. В большинстве стран исследования по применению бактериофагов проводятся в настоящее время в системах *in vitro* или на модельных животных. В Российской Федерации накоплен уникальный опыт применения бактериофагов в медицине, терапевтические препараты бактериофагов производятся в промышленном масштабе и разрешены для клинического применения. Результаты фаготерапии продемонстрировали преимущества фаговых препаратов: быстрота действия; высокая специфичность относительно инфекционного агента и отсутствие негативного влияния на микробиом человека; «экологичность» препаратов, основанных на природных и, как правило, широко распространенных объектах; возможность применения в комплексе с другими терапевтическими средствами, включая антибиотики; отсутствие токсического влияния на организм человека; медленное, по сравнению с применением антибиотиков, возникновение резистентных бактерий; способность разрушать биопленки; низкая цена и т.д.

Основным условием применения терапевтического бактериофага должно стать наличие чувствительности к нему микроорганизма. Это предполагает проведение быстрого и качественного микробиологического анализа и оперативный выбор фагового препарата или фагового коктейля, микробиологический контроль терапии. В течение 2010-2014 гг. в ИХБФМ СО РАН совместно с Железнодорожной клинической больницей г. Новосибирска в рамках экспериментального клинического исследования проводилась фаготерапия инфекций у пациентов, госпитализированных с синдромом диабетической стопы. Из образцов, взятых из инфицированных трофических язв, высеивали микроорганизмы, и в 91% случаев были определены бактериальные агенты, причем чаще регистрировалась смешанная инфекция. В 68% случаев при выявленной фагочувствительности проводилась фаготерапия методом аппликаций в течение 5-7 дней. Фаготерапия дала положительный эффект в 100% случаев с моноинфекциями, и в 40 % случаев с микст-инфекциями.

Накопленный опыт клинического применения продемонстрировал возможные пути развития фаготерапии и необходимость выработки ключевых принципов применения бактериофагов в будущем.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТАГОНИСТА ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛЕЙ, КОДИРУЕМОГО ВИРУСОМ НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ, ДЛЯ ТЕРАПИИ ХРОНИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СОСТОЯНИЙ

Щелкунов С. Н.¹, Гилева И. П.¹, Трегубчак Т. В.¹, Непомнящих Т. С.¹,
Максютов Р. А.¹, Орловская И. А.², Силков А. Н.², Сенников С. В.²

¹Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»,
Кольцово, Россия

²Институт фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск, Россия

Нарушение синтеза фактора некроза опухолей (TNF) является причиной ряда воспалительных заболеваний у человека. Проблема поиска новых TNF-антагонистов не утратила своей остроты до настоящего времени. Вирус натуральной оспы (VARV) содержит ген, направляющий синтез белка CrmB, состоящего из двух доменов: N-концевого, TNF-связывающего, и С-концевого, связывающего хемокины. Нами в различных лабораторных моделях было показано, что рекомбинантный белок VARV-CrmB (47 кДа) проявляет *in vitro* и *in vivo* выраженную TNF-нейтрализующую активность: защищает клетки мышинных фибробластов линии L929 от цитотоксического действия мышинного TNF (muTNF) и человеческого TNF (hTNF) и существенно повышает выживаемость мышей в экспериментальной модели септического шока.

Изучено влияние VARV-CrmB на hTNF-индуцированную продукцию IL-1b и IL6 человеческими мононуклеарными клетками здоровых доноров и muTNF-индуцированную миграцию дендритных клеток из кожного лоскута BALB/с мышей, а также влияние белка VARV-CrmB на TNF-зависимую дифференцировку клеток костного мозга человека и мыши. Белковые препараты для терапии заболеваний должны обладать низкой иммуногенностью, поскольку выявлено, что эффективность лечения может снижаться из-за развития иммунного ответа на терапевтический белок. Для синтезированного в бактериальных клетках укороченного TNF-BD (17 кДа) было показано, что он эффективно связывается с TNF и обладает меньшей по сравнению с CrmB иммуногенностью при многократном введении лабораторным животным.

Одним из основных медиаторов патогенеза ревматоидного артрита (РА) является TNF. Перспективным направлением является развитие генной терапии, которая может предложить новый способ лечения РА, действующий непосредственно в месте воспаления. В данной работе в качестве векторной использовали плазмиду экспрессии целевых генов в клетках млекопитающих pcDNA3.1, в которую встроили фрагмент ДНК, кодирующий последовательность N-концевого TNF-связывающего домена белка VARV-CrmB (sTNF-BD VARV). Для изучения возможной терапевтической активности полученной рекомбинантной плазмиды pcDNA/sTNF-BD выполнили эксперименты на крысах линии Wistar с коллаген-индуцированным артритом (КИА). Выполненный количественный анализ показал, что тяжесть гистопатологических изменений суставов задних конечностей крыс наиболее выражена у животных с КИА, которым вводили контрольную векторную плазмиду pcDNA3.1. Существенно меньшие гистопатологические изменения суставов обнаружены в группе крыс с КИА, которым инъецировали рекомбинантную плазмиду pcDNA/sTNF-BD, что указывает на перспективность генотерапии РА при локальном введении плазмид, направляющих синтез иммуномодулирующих белков ВНО.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-15-00050

МОДУЛЬНАЯ СИСТЕМА ЛЕНТИВИРУСНЫХ ВЕКТОРОВ ДЛЯ РАБОТЫ С ХИМЕРНЫМИ АНТИГЕННЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ

Кулемзин С. В.¹, Горчаков А. А.^{1,2}, Чикаев Н. А.¹, Кузнецова В. В.^{1,2}, Таранин А. В.^{1,2}

¹Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

²Новосибирский Государственный Университет, Новосибирск, Россия

Активность клеток иммунной системы, таких как Т-, NK- и NKT-клетки, можно перенаправить против клеток опухоли, используя так называемые химерные антигенные рецепторы (CAR). Эти искусственные рецепторы позволяют клеткам узнавать и уничтожать раковые клетки по поверхностной экспрессии заданного раково-ассоциированного антигена или комбинации таких антигенов, причем этот процесс происходит независимо от МНС-статуса клеток опухоли. Ключевыми в структуре химерных антигенных рецепторов (CAR) являются два домена – антигенраспознающий и сигнальный. Чаще всего в роли антигенраспознающего модуля CAR используются scFv-фрагменты антител. Кроме того, в последнее время появились CAR с альтернативными доменами на основе пептидов, нативных лиганд-рецепторных пар, VLR, VHH, аднектинов и т.д., которые способны эффективно выполнять ту же функцию. Такие форматы позволяют значительно расширить список узнаваемых CAR антигенов и их комбинаций, что должно обеспечить большую избирательность и эффективность CAR Т-клеток.

Сигнальные последовательности в составе CAR определяют не только силу активационного сигнала, но и его качество, что приводит к различной способности CAR Т-клеточных продуктов активироваться при встрече с клетками-мишенями и долговременно персистировать в организме пациентов. Таким образом, исследование взаимосвязи структурных элементов CAR и терапевтического эффекта является приоритетным направлением противораковой клеточной иммунотерапии.

Нами создана большая коллекция ленти- и ретровирусных конструкций, кодирующих варианты CAR с различной модульной структурой, против таких мишеней как PSCA, PSMA, CD20, VEGFR2, IGF-1R, CEA и т.д. Полученные CAR используют как традиционные scFv, так и домены на основе Fn3-модулей в качестве антигенраспознающих доменов. Вклад этих и других структурных отличий в функциональность CAR был успешно протестирован *in vitro* на Т-клеточной линии Jurkat (активационный тест) и NK-клеточной линии YT (цитотоксический тест).

Работа выполнена в рамках проектов РФФИ № 15-04-05749 и 16-04-00979

МЕХАНИЗМЫ ФОТОСЕНСИБИЛИЗИРОВАННОЙ АГРЕГАЦИИ БЕЛКОВ ХРУСТАЛИКА

Зеленцова Е. А.^{1,2}, Шерин П. С.^{1,2}, Сормачева Е. Д.¹, Дужак Т. Г.^{1,2}, Яньшолё В. В.^{1,2}, Центалович Ю. П.^{1,2}

¹Международный томографический центр СО РАН, Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

Организм человека подвержен воздействиям внешней среды, одним из которых является УФ-излучение, оказывающее негативное влияние на ткани кожи и органы зрения. Хрусталик глаза является оптической линзой, фокусирующей свет на сетчатке, и фильтром, защищающим ее от УФ-повреждения. Эта защита осуществляется благодаря малым молекулам в тканях хрусталика, которые эффективно поглощают УФ-излучение и переводят его в тепло (УФ-фильтры). Данные соединения фотохимически стабильны, но продукты их термического разложения могут необратимо модифицировать ткани хрусталика и вносить вклад в образование и развитие катаракты. В нашей работе были изучены фотохимические свойства продукта основного УФ-фильтра кинуренина – кинуреновой кислоты (KNA). В отличие от исходного кинуренина, KNA эффективно образует триплетное состояние с квантовым выходом около 80% [1], которое может вступать в реакцию с белками хрусталика.

Одной из особенностей тканей хрусталика является отсутствие возобновления белковой составляющей, благодаря чему пострансляционные модификации имеют накопительный характер. Для исследования модификаций белков хрусталика, образованных в результате реакций с фотовозбужденными УФ-фильтрами, был произведен анаэробный (концентрация кислорода в хрусталике крайне мала) фотолиз основного структурного белка бычьего хрусталика с присутствием KNA.

Было обнаружено, что реакции между фотовозбужденной KNA и α -кристаллином проходят через образование радикалов аминокислотных остатков триптофана и тирозина. Последующие реакции приводят к ковалентному связыванию молекул α -кристаллинов и как итог формированию высокомолекулярных агрегатов – потенциальных центров рассеяния света. Повторение экспериментов по фотолизу смеси белка и KNA с присутствием в растворе естественных антиоксидантов хрусталика показало, что аскорбиновая кислота, являясь эффективным тушителем триплетного состояния, препятствует всем наблюдаемым необратимым модификациям белков хрусталика, а восстановленный глутатион предотвращает агрегацию белка [2].

1. Zelentsova E. A., Sherin P. S., Snytnikova O. A., Kaptein R., Vauthey E., Tsentalovich Yu. P. *Photochemistry of aqueous solutions of kynurenic acid and kynurenine yellow. Photochem. Photobiol. Sci.* 2013, 12, 546-558

2. Sherin P. S., Zelentsova E. A., Sormacheva E. D., Yanshole V. V., Duzhak T. G., Tsentalovich Yu. P. *Aggregation of crystallins in kynurenic acid sensitized UVA photolysis under anaerobic conditions. Phys. Chem. Chem. Phys.* 2015, 8827-39

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-33-00669

BIOINSPIRED DESIGN OF AGGRESSIVE ANTIBACTERIAL AGENTS

Mustaev A.

New Jersey State University, Newark, USA

The rising incidence of antibiotic resistance represents one of the biggest current threats to public health worldwide, underscoring an urgent need for new paradigms in antibacterial drug development. A significant limitation of many currently used antimicrobials is their inefficient entry into bacterial cells due to poor membrane penetration, particularly in Gram-negative bacteria. This inefficient drug entry into cells results in limited access of the drugs to their cellular targets, prolonged time to killing, and therefore an extended time window during which resistance can emerge.

We suggest a new paradigm in antimicrobial drug design by creating aggressive macromolecular constructs that mimic how living organisms attack each other. In one approach, we propose constructs that attack bacteria through specific recognition of the bacterial cell surface, destabilization of the cell wall, followed by insertion and release of the attached killing agent into the bacterial cytosole. Second approach creates two macromolecular species that will irreversibly bind to each other on the bacterial surface and form a covalent web, thereby trapping bacterial cells inside a web-like “coffin” that blocks bacterial growth. In preliminary studies we designed, synthesized, and tested prototype constructs for both approaches.

These molecules display high binding affinity and specificity towards bacteria and potent growth inhibitory activity. Moreover, they are constructed from non-toxic materials, making them highly suitable for drug development. These studies establish and validate a novel platform in antibacterial drug design, which can subsequently be used for other types of therapeutics.

ОНКОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ДВОЙНОГО РЕКОМБИНАНТНОГО ВИРУСА ОСПОВАКЦИНЫ, КОДИРУЮЩЕГО ГЕНЫ ЛАКТАПТИНА И GM-CSF ЧЕЛОВЕКА

Коваль О. А.^{1,2}, Кочнева Г. В.^{1,3}, Сиволобова Г. Ф.^{1,3}, Троицкая О. А.^{1,2}, Ткачева А. В.^{1,3},
Гражданцева А. А.^{1,3}, Кулигина Е. В.¹, Рихтер В. А.¹

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский Государственный Университет, Новосибирск, Россия*

³*Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор",
Кольцово, Россия*

Разработка противоопухолевых препаратов на основе онколитических вирусов имеет большое значение для онкологии. Было показано успешное применение генно-модифицированных вирусов осповакцины (BOB) на различных опухолевых моделях. Целью данного исследования являлось конструирование двойного рекомбинантного вируса BOB (VV-GMCSF-Lact), экспрессирующего экзогенные белки - апоптоз-индуцирующий белок лактаптин и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор человека (GM-CSF), а также обладающего повышенной противоопухолевой активностью. Ранее на различных мышиных моделях *in vivo* было показано, что лактаптин, фрагмент каппа-казеина человека, способен подавлять рост опухолей. Рекомбинантный вирус VV-GMCSF-Lact был сконструирован на основе штамма Л-ИВП путем введения делеций в ген тимидинкиназы вируса и в ген вирусного ростового фактора и вставкой в эти районы генов *lact* и *gm-csf*.

Эксперименты по оценке цитотоксичности рекомбинантного вируса *in vitro* показали, что VV-GMCSF-Lact индуцировал клеточную гибель более эффективно, чем рекомбинантный вирус VV-GMCSF-dGF, экспрессирующий только GM-CSF и имеющий делецию в гене вирусного ростового фактора. Клетки нетрансформированной молочной железы человека MCF-10A были устойчивы к действию обоих рекомбинантных BOB в дозе, не превышающей 10 БОЕ/клетку. Индекс селективности для клеток молочной железы человека, измеренный в паре культур MCF-7/MCF 10A, составил 200 для рекомбинантного вируса VV-GMCSF-Lact и 100 для VV-GMCSF-dGF.

Методом проточной цитометрии мы показали, что обработка раковых клеток сконструированными BOB вела к индукции апоптоза в этих клетках, однако количество клеток с активированными каспазами -3 и -7 был выше в случае обработки VV-GMCSF-Lact. Мы исследовали увеличение продолжительности жизни и подавление роста опухолей при лечении рекомбинантными BOB, используя в качестве моделей иммунодефицитных и иммунокомпетентных мышей. Было обнаружено, что VV-GMCSF-Lact эффективно подавляет рост как чувствительных опухолей, так и опухоли с фенотипом лекарственной устойчивости. Таким образом, полученные результаты показали, что рекомбинантный BOB, кодирующий апоптоз-индуцирующий белок лактаптин, имеет хороший терапевтический потенциал.

Работа поддержана Российским Министерством Образования и Науки, Соглашение 14.604.21.0057 от 27.06.2014 (уникальный идентификатор проекта RFMEFI60414X0057)

**STUDY OF CELL-FREE DNA METHYLATION PATTERNS
BY NEXT GENERATION SEQUENCING
IN SEARCH OF PROSTATE CANCER DIAGNOSTICS**

Bondar A. A.¹, Kurilshikov A. M.¹, Morozkin E.S.^{1,2}, Zaripov M. M.³, Kabilov M. R.¹, Voytsitskiy V. E.³, Vlassov V.V.¹, Laktionov P. P.^{1,2}

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Academician E.N. Meshalkin Novosibirsk State Research Institute of Circulation Pathology, Novosibirsk, Russia*

³*Novosibirsk Regional Cancer Center, Novosibirsk, Russia*

To reveal minor tumor-specific aberrantly methylated molecules in total pool of circulating in blood cell-free DNA (cfDNA) target bisulfite sequencing of potential prostate cancer (PC) cfDNA markers (GSTP1; RNF219) was executed. Circulating DNA involved in the study was isolated from blood plasma of 18 healthy donors (HD), 17 benign hyperplasia (BPH) and 20 PC patients. Selected loci were amplified after bisulfite conversion (Zymo Research) of cfDNA with methyl-independent barcoded primers and sequenced with coverage ranging from 23509 to 143953 using MiSeq platform (Illumina).

The data obtained were analyzed using several different approaches. Conventional approach based on differences in methylation levels of CpG-sites and novel approach based on comparison of correlation matrices (CCM) for HD, BHP and PC groups. Study population was randomly subsampled into training and test cohorts. The logit regression model based on methylation levels of CpG-sites achieved an area under the ROC curve (AUC) exceeding 0.94 in both cohorts for GSTP1 gene and 0.81 - for RNF219 gene. ROC curves for binomial regression models based on correlation matrices (pairwise phi coefficient between methylation statuses of CpG sites) with LASSO penalization yielded AUC, specificity and sensitivity as 0.99, 100 % and 92 % for GSTP1 gene and 0.99, 100 % and 90 % for RNF219 (test cohort).

CCM approach estimates diagnostic value of target genes and reveals cancer-related cytosine methylation. That could potentially reflect the features of tumor cell physiology and on a par with conventional approaches provide helpful information for rational design of noninvasive, methylation-specific cfDNA-based diagnostics for PC.

Acknowledgements: study was supported by Presidium of SD RAN (program VI.62.1.4), and Presidium of the RAN (Molecular and Cellular Biology Program, №. 6.1)

ОЦЕНКА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ КСИМЕДОНА

Выштакалюк А.Б.¹, Парфенов А.А.¹, Гумарова Л.Ф.¹, Зобов В.В.^{1,2}, Назаров Н.Г.^{1,2},
Ленина О.А.¹, Кондрашина Д.А.¹, Семенов В.Э.¹, Галяметдинова И.В.¹,
Черепнев Г.В.¹, Резник В.С.¹

¹Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН,
Казань, Россия

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, россия

Учитывая, что на рынке лекарств отсутствуют препараты, полностью удовлетворяющие всем требованиям для гепатопротекторов, поиск эффективных средств для лечения печени является актуальным научным направлением. Производные пириимидина привлекают внимание как вещества, способные стимулировать процессы регенерации. В предыдущих наших исследованиях показано, что лекарственный препарат Ксимедон и его производное L-аскорбат 1-(2-гидроксиэтил)-4,6-диметил-1,2-дигидропириимидин-2-она (соед. 29Д) стимулируют восстановление биохимических показателей и структурно-морфологического строения печени у животных с токсическим гепатитом, индуцированным четыреххлористым углеродом (ЧХУ).

Нами ведутся исследования по целенаправленному скринингу гепатопротекторных свойств соединений в ряду производных пириимидина. В настоящей работе помимо соед. 29Д исследованы гепатопротекторные и токсикологические свойства новых производных Ксимедона – (1-(2-гидроксиэтил)-1,2-дигидро-3,4,6-триметил-2-оксопириимидинийодида) (соед. 1Д) и L-метионината (1-(2-гидроксиэтил)-1,2-дигидро-3,4,6-триметил-2-оксопириимидинийодида) (соед. 37Д).

Исследование острой токсичности показало, что по возрастанию токсичности соединения можно расположить в ряд: Ксимедон (LD_{50} более 6300 мг/кг), соед. 37Д (LD_{50} 5459 мг/кг), соед. 29Д (LD_{50} 5427 мг/кг) и соед. 1Д (LD_{50} 1800 мг/кг). По показателям острой токсичности исследованные соединения соответствуют требованиям для гепатопротекторов, т.к. принадлежат к классу токсичности выше III-IV.

Гепатопротекторные свойства веществ исследовали на модели токсического гепатита, индуцированного у белых крыс ЧХУ при двух схемах воздействия (1 схема: 11 дней препараты в дозах 1/300 от LD_{50} , затем на фоне введения препаратов 3-х дневная затравка ЧХУ (50% масляный раствор CCl_4 , доза 2 мл/кг, подкожно), отбор крови и гистологического материала; 2 схема: 11 дней препараты в дозах 1/500 от LD_{50} , затем на фоне введения препаратов 1-кратная затравка ЧХУ (та же доза), 2 дня препараты, отбор крови и гистологического материала).

Под действием Ксимедона и соед. 29Д наблюдали уменьшение патологических изменений в печени и снижение АЛТ. Под влиянием соед. 37Д в дозах 1/300 и 1/500 от LD_{50} наблюдали увеличение площади морфологических нарушений печеночной ткани и повышение биохимических маркеров поражения печени и почек. Под влиянием соед. 1Д гистологическое строение печени крыс не отличалось от контроля, но наблюдали снижение уровня АСТ и повышение глюкозы по сравнению с контролем, что является положительным действием соед. 1Д на ЧХУ-затравленных животных.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 14-50-00014

THERANOSTIC NANOPLATFORMS FOR SIMULTANEOUS CANCER IMAGING AND THERAPY: MULTIFUNCTIONAL NANOASSEMBLIES OF HUMAN SERUM ALBUMIN AND THERAPEUTIC NUCLEOTIDES

Godovikova T. S.¹, Lisitskiy V. A.¹, Chubarov A. S.¹, Akulov A. E.², Antonova N. M.¹, Zakharova O. D.¹, Koptug I. V.³, Popova T. V.¹, Kaledin V. I.², Razumov I. A.², Zavjalov E. L.², Moshkin M. P.², Silnikov V. N.¹

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia*

³*International Tomography Center, SB RAS, Novosibirsk, Russia*

Theranostics is a concept which refers to the integration of imaging and therapy. As an evolving new field, it is related to but different from traditional imaging and therapeutics. It embraces multiple techniques to arrive at a comprehensive diagnostic, in vivo molecular images and an individualized treatment regimen. There is a trend of tangling these efforts with emerging materials and nanotechnologies, in an attempt to develop novel platforms and methodologies to tackle practical issues in clinics. A promising approach for the development of theranostic platforms for the post-treatment evaluation of solid tumors is to use human serum albumin. It has been shown that macromolecules such as human serum albumin and synthetic polymers markedly accumulate in tumor tissues because of enhanced tumor vascular permeability and prolonged retention time in the tumor interstitium due to the obstruction of lymphatic drainage.

In our work, we suggest to use fluorinated albumin homocystamides and complex albumin-polyethyleneimine as trifluorothymidine carriers. Along with its beneficial properties as a chemotherapeutic agent, trifluorothymidine is a promising imaging agent. This provides a strong molecular basis for further application of trifluorothymidine nanoconstructs in the anticancer theranostic nanomedicine. If administered as a single agent, trifluorothymidine is known to be rapidly degraded in the human body (its plasma half-life is less than 20 min). By conjugating trifluorothymidine with albumin or polyethyleneimine, the therapeutic index of the drug can be greatly improved, since the polymers protects trifluorothymidine from renal clearance and, therefore, prolongs its circulation half-life. In addition, the enhanced permeation and retention effect of the macromolecular drug will allow preferential accumulation of the drug in tumor tissues. The anticancer activity of the trifluorothymidine conjugates proved to be significantly higher than that of cis-4-hydroxycyclophosphamide, which is one of the most successful anti-cancer drugs developed over the last few decades. Due to the presence of fluorine atoms, multifunctional nanoassemblies of the therapeutic nucleotide could be detected directly in the body by ¹⁹F magnetic resonance imaging.

This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (RFMEFI61314X0015)

ПЕПТИДЫ АКТИНИЙ – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ЦИТОПРОТЕКТОРЫ

Лейченко Е. В.^{1,2}, Монастырская М. М.¹, Зелепуга Е. А.¹, Гладких И. Н.¹,
Исаева М. П.^{1,2}, Синцова О. В.¹, Кветкина А. Н.¹, Калина Р. С.¹, Пислягин Е. А.¹,
Юрченко Е. А.¹, Козловский С. А.², Гарбуз М. М.², Аминин Д. Л.¹, Козловская Э. П.¹

¹Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

Исследование механизма действия биологически активных природных веществ и разработка на их основе тканеспецифических цитопротекторов позволяет создавать препараты для лечения и предупреждения развития различных заболеваний, в том числе сердечно-сосудистых и бронхолегочных, в основе патогенеза которых лежат процессы воспаления. В связи с этим поиск соединений, способных ингибировать активность ферментов, индуцирующих развитие воспалительных процессов, или регулировать функционирование ионных каналов, вовлеченных в эти процессы, является перспективным направлением в разработке препаратов-citoпротекторов. В настоящее время обнаружено большое количество природных ингибиторов протеаз различных типов, как у беспозвоночных, так и у млекопитающих, среди которых ингибиторы сериновых протеаз Кунитц-типа представляют особый интерес вследствие их структурного разнообразия и полифункциональности. Многообещающей моделью для разработки цитопротекторов являются также нейротоксины актиний, блокирующие или модулирующие различные ионные каналы.

Установлено, что пептиды Кунитц-типа актинии *Heteractis crispa* кодируются мультигенным семейством и существуют в виде комбинаторной библиотеки. Обнаружены различия в структурной организации их генов. Получены данные о последовательностях транскриптов, кодирующих нейротоксины различных видов актиний. Исследована биологическая активность более 20 пептидов (как нативных, так и рекомбинантных) на моделях *in vitro* и *in vivo*. Показано, что пептиды ингибируют действие гистамина на макрофаги костного мозга мыши, снижают уровень активных форм кислорода, продуцируемых в макрофагах при добавлении бактериального липополисахарида, изменяют проницаемость клеточных мембран, увеличивают уровень экспрессии шаперона Hsp70 в клетках асцитной карциномы Эрлиха, а также увеличивают выживаемость клеток нейробластомы Neuro2a при инкубировании с 6-OHDA (индуктором гибели клеток нейробластомы по механизму болезни Паркинсона).

Таким образом, пептиды актиний обладают значительным фармакологическим потенциалом и представляют интерес для дальнейшего детального изучения механизмов их функционирования.

Работа поддержана грантом РФФ № 14-25-00037

ПОЛИЭПИТОПНАЯ ДНК-ВАКЦИНА ПРОТИВ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: КОНСТРУИРОВАНИЕ, ДОСТАВКА В ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА И ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОГЕННОСТИ

Назаркина Ж. К.^{1,2}, Антонец Д. В.³, Бажан С. И.³, Карпенко Л. И.³, Ильичев А. А.³,
Лактионов П. П.^{1,2}

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения
имени акад. Е.Н. Мешалкина, Новосибирск, Россия*

³*Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»,
Кольцово, Россия*

Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место по заболеваемости и смертности среди онкологических заболеваний женщин. Несмотря на серьезные прорывы в диагностике и терапии РМЖ, достигнутые в последние годы, разработка новых эффективных методов терапии РМЖ является актуальной задачей современной медицины. Одним из вариантов такой терапии является индукция иммунного ответа против клеток опухоли. Нами предложено использовать для активации иммунного ответа дендритные клетки (ДК), нагруженные полиэпитопными ДНК-конструкциями, оптимизированными для повышения эффективности процессинга и включающими большое количество консервативных Т-клеточных эпитопов.

С использованием программного обеспечения TEpredict выбрано 43 потенциальных CTL-эпитопа белков HER2 и Mammaglobin-1 (Mam) – характерных онкогенов РМЖ. С помощью PolyCTLDesigner сконструирована полиэпитопная ДНК BC2, содержащая предсказанные эпитопы и 11 известных CTL-активирующих пептидов из базы Immune Epitope DataBase. Получены и охарактеризованы свободные от ЛПС препараты плазмидных ДНК pBC2, pMam и pHER2, кодирующие полиэпитопный антиген и полные копии Mam и HER2. Зрелые ДК были получены дифференцировкой из моноцитов периферической крови человека.

Проведено сравнение эффективности различных способов доставки генетического материала в ДК с использованием метафектена, липофектамина, магнитных частиц МАТга и системы доставки на основе альфа-вирусов. Показано, что наиболее эффективным способом доставки ДНК в ДК является использование МАТга. С использованием проточной цитометрии и микроскопии показано, что полученные ДК обладают морфологическими и фенотипическими признаками зрелых ДК. Т-клетки выделяли из периферической крови человека с использованием EasySep kit. Антиген-специфическую цитотоксическую активность Т-клеток в отношении клеток MCF-7 оценивали методом ELISPOT по изменению числа лимфоцитов, синтезирующих ИФН- γ в ответ на стимуляцию клетками MCF-7. Показано, что полученные ДК стимулируют пролиферацию Т-клеток, секрецию ИФН- γ , Th1-поляризацию Т-клеток и индукцию цитотоксического иммунного ответа. ДК, трансфицированные pBC2, более эффективно по сравнению с клетками, трансфицированными полными копиями антигенов, стимулируют антиген-специфическую активацию Т-клеток. Полученные данные демонстрируют эффективность предложенного подхода конструирования полиэпитопных ДНК-вакцин.

Работа выполнена при поддержке Президиума СО РАН (VI.62.1.4) и Президиума РАН (МКБ № 6.1)

ОПУХОЛЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ПЕПТИДЫ КАК СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ RL2

Немудрая А. А.¹, Макарецова А. А. 1, Коваль О. А.^{1,2}, Рихтер В. А.¹, Кулигина Е. В.¹

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

Рекомбинантный аналог протеолитического фрагмента к-казеина человека RL2 индуцирует апоптоз раковых клеток мыши и человека в культуре и тормозит рост и метастазирование опухолей животных и человека. В ходе доклинических испытаний препарата «Лактаптин», созданного на основе RL2, были показаны его безопасность и противоопухолевая эффективность. Однако равномерное распределение препарата по органам и тканям не позволяет в полной мере использовать его терапевтический потенциал.

В настоящее время различные модификации, позволяющие придать направленность действия (таргетность) препарату, рассматривают как один из перспективных путей повышения эффективности терапевтического действия противоопухолевых лекарственных средств.

Целью исследования является получение рекомбинантных слитых белков, состоящих из RL2 и опухолеспецифических пептидов, отобранных методом аффинной селекции из фаговых пептидных библиотек.

Для получения специфических пептидов скрининг фаговой пептидной библиотеки (Ph.D.[™]-12 Phage Display Peptide Library Kit (New England Biolabs, США)) проводили на раковых клетках и опухолевых моделях, которые обладают высокой чувствительностью к действию RL2. Проведен биопэннинг *in vitro* на клетках гепатоаденокарциномы-1 (ГА-1) мыши и клетках аденокарциномы молочной железы человека линий MDA-MB-231 и MCF-7. Биопэннинг *in vivo* выполнен на мышинной опухолевой модели ГА-1 и опухоли человека MDA-MB-231 в модели-ксенографтов.

На основе нуклеотидных последовательностей, кодирующих отобранные пептиды и RL2, сконструированы рекомбинантные плазмиды, обеспечивающие синтез слитых белков «опухолеспецифический пептид-RL2» в клетках штамма-продуцента *E.coli*. Проведена сравнительная оценка цитотоксической активности *in vitro* и противоопухолевой эффективности *in vivo* полученных слитых белков.

Работа поддержана Министерством образования и науки Российской Федерации ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 – 2020 годы», соглашение № 14.607.21.0063 (RFMEFI60714X0063)

TISSUE ENGINEERING OF VASCULAR GRAFTS: DESIGN AND STUDY OF ELECTROSPUN PRODUCED 3D MATRICES

Stepanova A. O.^{1,2}, Laktionov P. P.^{1,2}

¹*Institute of chemical biology and fundamental medicine SD RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk Research Institute of Circulation Pathology of Academician E.N. Meshalkin, Novosibirsk, Russia.*

Improvement of properties of currently used small diameter vascular grafts (sdVG) is urgently needed for current cardiovascular surgery. Thus the development of materials enable to produce artificial sdVG possessing currently required properties is the priority object of the study. We investigated scaffolds produced by electrospinning, which were shown to represent convenient materials for production of sdVG but a number of their properties like low flexural strength, kink and low dishevel resistance as well as unhandy porosity and tendency to neointima formation must be improved.

3D matrices (3DM) or vascular grafts with inner diameter 1.8 mm were produced using electrospinning set up NF-103 from polycaprolactone (PCL), nylon 6, polylactic-co-glycolic acid (50:50) and their mixtures with proteins in 1,1,1,3,3,3-hexafluoroisopropanol solution. 3DM were tested using testing machine/scanning electron microscopy (SEM) and X-ray photoelectron spectroscopy, additionally were measured the porosity of matrices and influence of electron beam irradiation on the mechanical characteristics. Human primary endothelial cells (HUVEC) and gingival fibroblasts (HGF) were used in biocompatibility test *in vitro*.

Introduction of gelatin and irradiation treatment were shown to increase proportional limit and yield stress of PCL almost twice but irradiation in a dose dependent manner decreases stability of 3DM the efficacy of protein release and increase surface absorption of proteins. Semi-permeable 5-10 micron inner layer is enable to vary permeability of VG in a range $\sim 20 \div 0.05$ ml. The data of *in vitro* experiments demonstrate that irradiation does not interfere with adherence, viability and efficacy of proliferation both of HGF and HUVEC on 3DM. Intravital functioning of VG using MRI, histochemical and light/fluorescent microscopy of explanted VG demonstrates the prevalence of VG with semi-permeable inner layer.

This work was supported by a RSF grant (№ 14-15-00493)

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕЛЕЗЕНКЕ И ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ С МЕЛАНОМОЙ В16 ПРИ ЛЕЧЕНИИ ДАКАРБАЗИНОМ И isPНК

Сенькова А. В.¹, Савин И. А.², Кабилова Т. О.¹, Черноловская Е. Л.¹, Зенкова М. А.¹

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Россия*

Одним из приоритетных направлений экспериментальной онкологии является разработка средств адъювантной терапии, повышающих эффективность и снижающих токсичность стандартных схем лечения опухолей, в частности гепатотоксичность, поскольку большинство противоопухолевых препаратов подвергаются биотрансформации в печени с образованием токсических метаболитов. Меланома является иммуногенной опухолью, в связи с чем рассматриваются стратегии по усилению иммунного ответа организма в ответ на данный вид опухоли. Малые интерферирующие РНК, в зависимости от их структуры и способа доставки, способны стимулировать врожденный и приобретенный иммунитет. Используемая в данном исследовании малая интерферирующая РНК обладает выраженным противоопухолевым и иммуностимулирующим действием (isPНК).

Целью исследования было оценить противоопухолевое, иммуностимулирующее и гепатотоксическое действие дакарбазина и isPНК на модели меланомы В16, перевитой подкожно, в условиях монотерапии и при комбинированном лечении.

Показано, что комбинированное лечение меланомы В16 дакарбазином и isPНК, а также монотерапия isPНК наиболее эффективно подавляет рост опухолевого узла, а также увеличивает продолжительность жизни животных-опухоленосителей.

При микроскопическом исследовании селезенки мышей с меланомой В16 без лечения было выявлено небольшое количество фолликулов без светлых центров. При введении мышам-опухоленосителям isPНК как в режиме монотерапии, так и в комбинации с дакарбазином в селезенке были обнаружены признаки активации иммунной системы: увеличение размеров и количества фолликулов, их слияние между собой, появление в фолликулах светлых центров. При морфометрическом исследовании селезенки было выявлено увеличение площади фолликулов и объемной плотности белой пульпы в 4 раза по сравнению с контролем.

При морфометрическом исследовании печени животных с меланомой В16 без лечения были выявлены выраженные деструктивные изменения, составившие более 50% от всей паренхимы печени и представленные преимущественно некрозами. Введение isPНК в режиме монотерапии, а также комбинированное лечение дакарбазином и isPНК не вызывало нарастания деструктивных изменений в печени животных-опухоленосителей.

Таким образом, комбинация дакарбазина и isPНК обладает выраженным иммуностимулирующим действием, является более эффективной по сравнению с монотерапией и не оказывает дополнительного повреждающего воздействия на печень.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта
№16-15-10105*

ПОИСК НЕИНВАЗИВНЫХ МАРКЕРОВ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ ПРИ РАКЕ ЛЕГКОГО: ДИНАМИКА МЕТИЛИРОВАНИЯ LINE-1 РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ В КРОВИ

Пономарева А. А.^{1,3}, Рыкова Е. Ю.², Чердынцева Н. В.^{1,4}, Бондарь А. А.²,
Добродеев А. Ю.¹, Завьялов А. А.¹, Тузиков С. А.¹, Власов В. В.²,
Лактионов П. П.^{2,5}

¹Томский НИИ онкологии, Томск, Россия

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия

³Томский педагогический университет, Томск, Россия

⁴Томский государственный университет, Томск, Россия

⁵НИИ патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина,
Новосибирск, Россия

Основными компонентами aberrантного метилирования ДНК клеток опухоли являются гиперметилирование промоторов некоторых генов и гипометилирование значительной части ДНК, в частности, ретротранспозонов. В ткани рака легкого (РЛ) выявлено гипометилирование ретротранспозонов семейства LINE-1. Известно, что при онкологических заболеваниях в циркулирующей ДНК (цирДНК) плазмы и цирДНК, связанной с поверхностью клеток крови (скп-цирДНК), накапливаются фрагменты опухоли-специфичных aberrантно метилированных ДНК, которые являются потенциальными онкомаркерами.

Мы провели анализ уровня метилирования LINE-1 повторов в цирДНК крови 16-ти больных РЛ до и после терапии. ЦирДНК выделяли из плазмы крови, скп-цирДНК выделяли из фракции, полученной последовательной обработкой клеток крови фосфатным буфером и раствором трипсина. Концентрацию метилированных фрагментов LINE-1 района 1 (LINE met) определяли методом количественной метил-специфичной ПЦР. Для нормирования данных по метилированию оценивали концентрацию всех фрагментов LINE-1 района 2 (LINE Ind) независимо от метилирования методом количественной ПЦР. Ранее было показано, что фракция скп-цирДНК является информативным источником материала для диагностики РЛ, поэтому в настоящей работе определяли уровень метилирования LINE-1 повторов в составе скп-цирДНК у пациентов на этапах динамического наблюдения (после 2-х курсов неoadъювантной химиотерапии и последующего хирургического вмешательства).

Показана корреляция уровня метилированных фрагментов LINE met и уровня фрагментов LINE Ind в скп-цирДНК до лечения ($r=0,98$), после химиотерапии ($r=0,66$), после операции ($r=0,85$) ($p<0,05$, критерий Спирмена). Выявлена тенденция в общей группе больных РЛ к снижению концентрации фрагментов LINE met и LINE Ind после химиотерапии по сравнению с уровнем до лечения ($p=0,1$, парный t-тест). После резекции опухоли концентрация фрагментов LINE met, LINE Ind в 1-ой группе пациентов ($n=10$) изменялась в ряду: снижение после ХТ – увеличение после операции, во 2-ой группе ($n=6$) в ряду: увеличение после ХТ – снижение после операции.

Полученные результаты говорят о перспективности дальнейших исследований характера динамики изменений уровня метилирования LINE-1 повторов в зависимости от проводимого противоопухолевого лечения.

АНАЛИЗ МЕХАНИЗМА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СОЛОКСОЛОН МЕТИЛА - ПРОИЗВОДНОГО ГЛИЦЕРРЕТОВОЙ КИСЛОТЫ

Марков А. В.¹, Саломатина О. В.², Салахутдинов Н. Ф.², Зенкова М. А.¹,
Логащенко Е. Б.¹

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины,
Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова,
Новосибирск, Россия*

Природные тритерпеноиды и их синтетические аналоги в настоящее время стали перспективным источником новых лекарственных средств. Данные соединения характеризуются огромным разнообразием молекулярных структур, низкой токсичностью, способностью воздействовать на несколько специфических мишеней внутри клеток, что определяет широкий спектр их биологической активности.

С целью усиления нативной биологической активности было синтезировано соединение метил 2-циано-3,12-диоксо-18 β H-olean-1(2),11(9)-диен-30-оат, названное впоследствии солоксолон метилом (СМ), характеризующееся наличием 2-циано-1-ен-3-оновой структуры в кольце А и заменой нативного для глицирретовой кислоты (ГЛК) 11-оксо-12-енового фрагмента на 12-оксо-11-еновый фрагмент в кольце С. Было показано, что СМ вызывает гибель опухолевых клеток путем индукции в них каспаз-зависимого внутреннего пути апоптоза. Для более детального анализа внутриклеточных событий, активируемых действием СМ, был проведен полнотранскриптомный анализ экспрессии генов опухолевых клеток, инкубированных в присутствии СМ.

В результате было установлено, что СМ вызывает множественные преобразования в регуляторном аппарате клетки – наблюдается значительное изменение уровня экспрессии генов, вовлеченных в целый ряд клеточных процессов, среди которых стресс ЭПР, повышенная экспрессия p53 регулируемых проапоптотических генов, активация Egr1/ATF3/NAG1 и KLF4/p21 сигнальных путей.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта «Молекулярная и клеточная биология» (грант No. 6.1), НИИ – 7623.2016.4

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТИ 3D-МАТРИКСОВ С ПОМОЩЬЮ ХИМИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ И РЕНТГЕНОВСКОЙ ФОТОЭЛЕКТРОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Черноносова. В. С.^{1,2}, Степанова А. О.^{1,2}, Квон Р. И.³, Лактионов П. П.^{1,2}

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины,
Новосибирск, Россия

²ННИИ Патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина, Новосибирск, Россия

³Институт катализа им. Г.К. Борескова, Новосибирск, Россия

Поверхность 3D-матрикс, предназначенных для тканевой инженерии, имеет принципиальное значение, поскольку в первую очередь определяет взаимодействие матрикс с клетками, интеграцию с окружающими тканями, иммунную реакцию и т.д.. Биохимические методы и методы культивирования клеток позволяют получить представление о поверхности матрикс, прогнозировать поведение матрикс в организме, но не являются прямыми методами исследования поверхности и не дают детального представления о структуре поверхностного слоя. В качестве методов прямого исследования поверхности мы использовали химическую модификацию матрикс и рентгеновскую фотоэлектронную спектроскопию (РФЭС), а в качестве объекта исследования – 3D-матрикс, изготовленные методом электроспиннинга из растворов синтетических и природных полимеров.

В представленной работе были исследованы матрикс, изготовленные электроспиннингом из растворов поликапролактона (ПКЛ) с человеческим альбумином (ЧСА) или желатином (ЖЛ) в гексафтор-2-изопропанол. Микроструктура поверхности матрикс была исследована методом сканирующей электронной микроскопии, распределение белка в поверхностном слое было исследовано при помощи модификации N-(2-гидроксиэтил) феназином и РФЭС с использованием ферментативной обработки.

Все матрикс представляли собой фибриллярные структуры с гладкой поверхностью волокон, диаметр которых составлял $0,3 \div 0,5$ микрон. Данные, полученные при помощи аффинной модификации матрикс, в целом соответствуют данным РФЭС. По данным РФЭС обзорный спектр ПКЛ содержит фотоэлектронные линии только углерода и кислорода. Спектр C1s линии «чистой» подложки хорошо разлагается на 3 состояния в отношении 4:1:1, спектр O1s – на два примерно равных по интенсивности состояния, атомное отношение C:O составляет 3:1, т.е. совпадает со стехиометрическим содержанием элементов в ПКЛ. При добавлении в состав матрикс биополимеров в спектрах РФЭС появляются линии, отвечающие азоту и сере. Содержание биополимеров оценивали по стехиометрическому составу элементов ЧСА и ЖЛ. Показано, что концентрация белка в поверхностном слое матрикса до 12 раз выше, чем в исходном растворе: причем, чем ниже концентрация белка в растворе, тем больше такое превышение. Обработка матрикс протеиназой K приводит к уменьшению концентрации белка в поверхностном слое на 20-35%, причем наиболее эффективно идет удаление цистеин/метионин-содержащих пептидов. Показано, что концентрация белка на поверхности матрикс не изменяется в течение длительного времени.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-15-00493

ГУМАНИЗИРОВАННОЕ АНТИТЕЛО ПРОТИВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА: ОТ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ДО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА

Тикунова Н.В.¹, Матвеев А.Л.¹, Байков И.К.¹, Матвеев Л.Э.¹, Хлусевич Я.А.¹,
Бондаренко Д.А.², Стронин О.В.³, Мурашев А.Н.²

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (Филиал), Пуцино, Россия

³Филиал НПО «Микроген» МЗ РФ НПО «Вирион», Томск, Россия

Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), представитель семейства *Flaviviridae*, способен вызывать заболевание, приводящее к серьезным поражениям нервной системы. В настоящее время для терапии клещевого энцефалита применяют сывороточный иммуноглобулин, получаемый из крови доноров, проживающих в природных очагах заболевания. Этот препарат обладает терапевтическим эффектом особенно при введении в 1-2 день после укуса клеща. Вместе с тем, препарат обладает определенными недостатками.

С целью создания альтернативного препарата было сконструировано оригинальное гуманизированное антитело против гликопротеина Е ВКЭ. Антитело сконструировали на основе вариабельных доменов вируснейтрализующего моноклонального антитела и константных доменов IgG1/карпа человека. Сродство созданного антитела к белку Е ВКЭ составило $2,6 \times 10^{10}$ М-1; индекс нейтрализации (IC₅₀) в экспериментах *in vitro* - 0,043 мкг/мл. На основе суспензионной культуры эукариотических клеток CHO-S был создан стабильный штамм-продуцент гуманизированного антитела; оптимизированы способы его очистки, подтверждена правильность структуры, исследован профиль гликозилирования.

С использованием периферийной мышинной модели КЭ продемонстрировано, что разработанное лекарственное средство обладает специфической противовирусной активностью, существенно превышающей таковую у коммерческого сывороточного препарата. Разработанное лекарственное средство обладает протективной и терапевтической активностью. Исследование фармакокинетики было проведено в 1-камерной и 2-камерной моделях и показано, что в обоих случаях фармакокинетика разработанного средства не отличается от таковой у других препаратов антител. Проведено исследование острой и субхронической токсичности лекарственного средства при внутримышечном и внутривенном введении и показано, что лекарственное средство не обладает токсичностью при обоих способах введения. Изучение иммунотоксических свойств показало, что препарат не вызывает изменений иммунитета, выявляемых по уровню титра антител у экспериментальных животных и по влиянию на лимфоидные органы; введение препарата не сопровождалось изменениями индекса реакции гиперчувствительности замедленного типа, не сопровождалось изменениями фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов и не вызывало кожной анафилаксии у морских свинок. В экспериментах *in vivo* продемонстрировано отсутствие антитело-зависимого усиления инфекции (ADE).

Таким образом, разработанное лекарственное средство может быть рекомендовано для проведения клинических испытаний.

**ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ
РЕКОМБИНАНТНОГО ВИРУСА ОСПОВАКЦИНЫ LIVP-GFP
В КЛЕТКАХ ЛИМФОСАРКОМЫ С ФЕНОТИПОМ
МНОЖЕСТВЕННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ**

Гончарова Е. П., Петров И. С., Руженкова Ю. С., Зенкова М. А.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

Эффективность химиотерапии злокачественных новообразований ограничена способностью опухолевых клеток адаптироваться к изменениям внешней среды, что приводит к возникновению множественной лекарственной устойчивости (МЛУ). Ранее было показано, что онколитические вирусы способны эффективно разрушать опухолевые клетки различного гистогенеза и в настоящее время разрабатывается целый ряд противоопухолевых препаратов на основе РНК- и ДНК-содержащих вирусов. В нашей работе мы оценивали перспективность использования генетически модифицированного вируса осповакцины LIVP-GFP для терапии опухолей с МЛУ.

В ходе настоящей работы мы показали, что вирус LIVP-GFP эффективно реплицируется в клетках цервикальной карциномы человека KB-3-1 (МЛУ-), KB-8-5 (МЛУ+) и меланомы B-16, тогда как мы не обнаружили репродукции вируса в клетках лимфосаркомы мышей RLS и RLS-40 (МЛУ+). Противоопухолевую активность вируса LIVP-GFP мы оценивали на модели мыши линии C57BL/6 – меланомы B-16, также впервые была охарактеризована эффективность противоопухолевой терапии LIVP-GFP на модели мыши линии CBA/LacSto – лимфосаркома мышей RLS-40 (МЛУ+). Нами установлено, что значительное ингибирование роста меланомы B-16 после внутриопухолевого введения вируса является результатом прямого лизиса опухолевых клеток, тогда как торможение роста лимфосаркомы RLS-40 и редукция метастазов у мышей обусловлены активацией иммунной системы хозяина.

Таким образом, проведенное исследование показало, что рекомбинантный штамм вируса осповакцины LIVP-GFP обладает выраженным онколитическим действием и может быть использован для получения новых высокоспецифичных препаратов для терапии опухолей с МЛУ.

CHANGES IN BIOCHEMICAL AND IMMUNOLOGIC PARAMETERS, LYMPHOCYTE PROLIFERATION, AND HEMATOPOIETIC PROGENITOR COLONY FORMATION IN EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE ENCEPHALOMYELITIS MICE TREATED WITH MYELIN OLIGODENDROCYTE GLYCOPROTEIN

Nevinsky G. A.¹, Buneva V. N.¹, Popova N. A.², Orlovskaya I. A.³

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia*

³*Institute of Clinical Immunology, SB RAMS, Novosibirsk, Russia*

First, it was shown, that spontaneous development of systemic lupus erythematosus (SLE) leading to the formation of different abzymes in autoimmune-prone MRL-lpr/lpr mice is associated with changes in colony formation of hematopoietic progenitors. Myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) is an antigen of the myelin sheath, which may trigger immune cell responses and the production of auto-antibodies in multiple sclerosis (MS). We have used MOG35-55-induced experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), a model of human MS, to assess the production of catalytically active IgG antibodies or abzymes which have been shown to be present in sera of patients with several autoimmune diseases. Here we show that IgGs from the sera of control C57BL/6 mice are catalytically inactive.

During development of EAE, a specific reorganization of the immune system of mice occurred leading to a condition which was associated with the generation of catalytically active IgGs hydrolyzing DNA, myelin basic protein (MBP), and MOG which was associated with increased proteinuria, changes in differentiation of mice bone marrow hematopoietic stem cells (HSCs) and an increase in proliferation of lymphocytes in bone marrow, spleen, and thymus as well as a significant suppression of cell apoptosis in these organs.

The strongest alterations were found in the early disease phase (18-24 days after immunization) and were less pronounced in later EAE stages (40 days after EAE induction). We conclude that a significant increase in DNase and proteolytic activities of antibodies may be considered the earliest statistically significant marker of MOG-induced EAE in mice. The possible differences in immune system reorganizations during preclinical phases of the disease, acute and late EAE, leading to production of different autoantibodies and abzymes as well as other changes are discussed. Cuprizone-induced demyelination is a widely used experimental model to study processes of de- and remyelination in the central nervous system.

Our data indicate that cuprizone treatment is associated with demyelination, but not autoimmune reactivity.

Секция 4
Белково-нуклеиновые взаимодействия
в надмолекулярных комплексах

SELF-ORGANIZATION OF HIGHER-ORDER CHROMATIN DOMAINS

Ulianov S. V.^{1,2}, Khrameeva E. E.^{3,4}, Gavrilov A. A.¹, Flyamer I. M.^{1,2}, Kos P.T.⁵,
Chertovich A. T.⁵, Gelfand M. S.^{4,6}, Shevel'yov Y. Y.⁷, Razin S. V.^{1,2}

¹*Institute of Gene Biology, RAS, Moscow, Russia*

²*Department of Molecular Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

³*Skolkovo Institute of Science and Technology, Skolkovo, Russia*

⁴*Institute for Information Transmission Problems (the Kharkevich Institute), RAS, Moscow, Russia*

⁵*Physics Department, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

⁶*Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

⁷*Department of Molecular Genetics of Cell, Institute of Molecular Genetics RAS, Moscow, Russia.*

Eukaryotic chromosomes appear to be partitioned in large self-interacting domains separated by boundary regions or inter-TADs. How this spatial organization of chromatin is established and supported is not clear. Here we show that inter-TADs in normal chromosomes of *Drosophila* coincide with inter-bands in polytene chromosomes and bear the same chromatin marks, including all marks of active chromatin and also chromator. Depositing of chromator is one of the most important distinctive features of interband chromatin. Thus, one may propose that the presence of this protein may somehow be necessary for maintaining relatively de-compact chromatin state and therefore for spatial separation of TADs.

To check this supposition we performed knock-down of chromator protein in *Drosophila* cultured cells BG3 and compared TAD profiles before and after knock-down. No major differences were observed. It appears that integral features of active chromatin rather than the presence of any individual protein determine the TAD boundaries. Of particular importance is the high level of histone acetylation that directly influences the ability of nucleosomes to interact with each other. Using computer simulations, we demonstrated that polymers composed of long blocks of non-acetylated (capable to interact with each other) nucleosomes interspersed with shorter blocks of acetylated (incapable to interact with each other) nucleosomes adopts spatial organization closely resembling organization of chromosomes in TADs. The important role of histone acetylation in determining TAD profiles was further confirmed by experiments with chemical inhibition of histone acetylases and histone deacetylases in BG3 cells.

TELOMERE AND TELOMERASE - NEW FEATURES

Malyavko A., Zvereva M., Petrova O., Rodina E., Mantsizov A., Polshakov V., Naraykina Y., Rubtsova M., Dontsova O.

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Telomerase is a key participant of telomere length maintaining system. Using yeast model system we were able to find how telomerase itself can control the telomere length and determine the telomere to be elongated first. Further study resulted in understanding the role of specific telomere binding protein in telomere length regulation. Structure of N-terminal domain and nucleic acids interaction sites determined by NMR will be discussed.

In mammals telomerase is activated in cancer. The novel approaches to design telomerase inhibitors - small molecule and oligonucleotide-based will be discussed.

Besides being an essential part of telomerase complex, telomerase RNA has other function unrelated to telomerase. The data about unusual function of telomerase RNA will be presented.

НЕКАНОНИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ ГЛАВНОЙ И АЛЬТЕРНАТИВНЫХ СИГМА-СУБЪЕДИНИЦ БАКТЕРИАЛЬНОЙ РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ В ТРАНСКРИПЦИИ

Пупов Д. В.¹, Петушков И. В.^{1,2}, Есюнина Д. М.¹, Кульбачинский А. В.^{1,2}

¹*Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия*

²*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

Инициация транскрипции – одна из основных регуляторных стадий в экспрессии генов у всех организмов. Для узнавания промоторов и инициации синтеза РНК все клеточные РНК-полимеразы используют специальные белковые факторы. В случае бактерий главную роль в узнавании промоторов играет сигма-субъединица РНК-полимеразы. Большинство бактерий содержат одну главную и несколько альтернативных сигма-субъединиц, ответственных за экспрессию разных групп генов.

В наших исследованиях установлено, что главная сигма-субъединица принимает участие не только в узнавании промоторов и плавлении ДНК, но и на последующих стадиях инициации транскрипции, включая праймирование синтеза РНК, уход РНК-полимеразы с промотора и формирование промотор-проксимальных пауз транскрипции. Показано, что в этих процессах важную роль играет эволюционно-консервативный район сигма-субъединицы, который позиционирует матричную ДНК в активном центре РНК-полимеразы, стимулирует связывание инициаторных нуклеотидов, а затем облегчает переход к элонгации за счет взаимодействий с растущей РНК. В то же время, этот район сигма-субъединицы дестабилизирует комплексы РНК-полимеразы с определенным классом промоторов, что обеспечивает снижение их активности в стрессовых условиях. Установлено, что похожие механизмы действуют в случае некоторых (но не всех) альтернативных сигма-субъединиц РНК-полимеразы.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 14-04-01696 и № 15-34-20928

МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ НАПРЯЖЁННОГО КОМПЛЕКСА РНК-ПОЛИМЕРАЗЫ НА ПРОМОТОРЕ И ПРИ ОБРАЗОВАНИИ СИГМА-ЗАВИСИМЫХ ПАУЗ ТРАНСКРИПЦИИ

Петушков И. В.^{1,2}, Кульбачинский А. В.^{1,2}

¹*Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия*

²*Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

Инициация транскрипции – ключевая стадия регуляции экспрессии генов у бактерий. Инициация транскрипции происходит в промоторных участках при участии холо-фермента РНК-полимеразы (РНКП), состоящего из кор-фермента и варибельной сигма-субъединицы, которая отвечает за узнавание и плавление ДНК в области промотора. Сейчас становится понятно, что сигма-субъединица также важна для связывания инициаторных нуклеотидов, синтеза РНК-праймеров, ухода РНКП с промотора и образования сигма-зависимых пауз на стадии элонгации транскрипции. Целью нашей работы является сравнение структурных перестроек промоторного комплекса в процессе инициации и элонгационного комплекса при образовании сигма-зависимых пауз транскрипции.

С использованием методов футпринтинга и транскрипции *in vitro* мы выявили, что в процессе синтеза первых нуклеотидов РНК происходит сдвиг передней границы промоторного комплекса при сохранении положения задней границы (за счёт сохранения контактов сигма-субъединицы с промотором), что говорит о формировании напряжённого комплекса, который накапливает «избыточную» ДНК. Такой комплекс может сдвинуться назад с выбросом abortивного РНК-продукта или перейти к элонгации, разорвав контакты с промотором. Мы установили, что транскрипционные факторы GreA и GreB, которые стимулируют расщепление РНК в активном центре РНКП, способствуют образованию напряжённого комплекса и переходу к элонгации.

При образовании сигма-зависимых пауз также формируется напряжённый комплекс, имеющий более широкие границы, чем обычный элонгационный комплекс. Он возникает за счёт того, что РНКП включает новые нуклеотиды, в то время как сигма-субъединица сохраняет контакты с промотор-подобным элементом. Нами получены мутации в кор-ферменте и сигма-субъединице РНКП, которые способствуют формированию напряжённого комплекса как на стадии инициации, так и при образовании сигма-зависимых пауз транскрипции. Полученные данные указывают на существование единого механизма возникновения напряжённых комплексов на разных стадиях транскрипции.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-34-00824

КАК КЛЕТОЧНЫЙ БЕЛОК KU ПОМОГАЕТ РЕПЛИКАЦИИ ВИЧ-1

Готтих М. Б.

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Москва, Россия*

Белок человека Ku выполняет в клетке множество функций, главной из которых является участие в репарации двуцепочечных разрывов в ДНК по механизму неомологичного соединения концов. Описано также участие Ku в регуляции репликации, транскрипции и трансляции, поддержании целостности теломер и ряде других клеточных процессов. Помимо этого, обнаружено, что клеточный белок Ku важен для успешной репликации ВИЧ-1. Механизм, по которому Ku стимулирует развитие вируса, пока непонятен. Существует две основные гипотезы: 1) Ku влияет на транскрипцию с интегрированной в геном клетки вирусной ДНК и 2) Ku способствует успешной интеграции, взаимодействуя с интегразой ВИЧ-1 и защищая ее от протеасомной деградации. Первая гипотеза предполагает, что Ku связывается с вирусным промотором, хотя механизм такого связывания пока непонятен. Существуют данные рентгено-структурного анализа комплекса Ku с ДНК, которые хорошо объясняют механизм прочного связывания этого белка с концом ДНК, но не с ее внутренними областями.

В докладе представлены данные нашего исследования связывания Ku и его субъединицы Ku70 с различными структурами ДНК и РНК. Помимо этого, мы подробно изучили взаимодействие субъединицы Ku70 с интегразой ВИЧ-1 и выявили основной сайт связывания этих белков.

Работа поддержана грантами РФФ № 14-24-00061 и РФФИ № 14-04-00833

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕТЕРОДИМЕРНОЙ ЭНДОНУКЛЕАЗЫ РЕСТРИКЦИИ BspD6I С МОДИФИЦИРОВАННЫМИ ФРАГМЕНТАМИ ДНК

Абросимова Л. А.¹, Гавшина А. В.¹, Кубарева Е. А.¹, Железная Л. А.², Орецкая Т. С.¹

¹Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
НИИ физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского, Москва, Россия

²Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

Объектом исследования является гетеродимерная эндонуклеаза рестрикции (ЭР) BspD6I, узнающая в ДНК последовательность 5'-GAGTC-3'/5'-GACTC-3' и состоящая из большой (БС) и малой субъединиц (МС). БС способна самостоятельно связываться с ДНК и катализировать гидролиз «верхней» цепи на расстоянии 4 пар нуклеотидов (п.н.) в направлении 3'-конца от участка узнавания. Таким образом, она представляет собой никующую эндонуклеазу. МС катализирует гидролиз «нижней» цепи на расстоянии 5 (10%) и 6 (90%) п.н. в направлении 5'-конца от участка узнавания, причем гидролиз может происходить только в присутствии БС. Данные о структуре БС и/или МС с ДНК отсутствуют. Остается неизвестным, каким образом происходит узнавание ДНК-субстрата МС и какую роль при этом играет БС.

Для изучения взаимодействия субъединиц ЭР BspD6I между собой, а также с ДНК-субстратом, сконструирована серия синтетических ДНК-дуплексов, содержащих в качестве дополнительного звена ненуклеозидную вставку с остатком азобензола. Остаток азобензола необходим для нивелирования эффекта дестабилизации двойной спирали ДНК при введении ненуклеозидной вставки. Показано, что введение модификации в «верхнюю» цепь в положение гидролиза БС блокирует ее активность, при этом степень гидролиза «нижней» цепи МС также значительно снижается. Наличие азобензольной группы в основном месте гидролиза МС также приводило к снижению активности как БС, так и МС, что указывает на тесную взаимосвязь субъединиц в процессе их функционирования. Введение ненуклеозидной вставки с 3'-конца от участка узнавания за 2 п.н. до места гидролиза БС практически не влияло на эффективность расщепления «верхней» цепи. Однако в этом случае происходило перераспределение количества продуктов гидролиза «нижней» цепи: МС преимущественно вносила разрыв на расстоянии 5 п.н. в направлении 5'-конца от участка узнавания. Таким образом, впервые обнаружено влияние ненуклеозидных вставок в цепь ДНК, с которой взаимодействует БС, на функционирование МС. Использование ДНК-дуплексов с модифицированной «верхней» цепью позволяет направленно изменять специфичность действия МС.

Введение модификации в «нижнюю» цепь на расстоянии 2 и 5 п.н. в направлении 5'-конца от участка узнавания не оказывало влияния на активность БС, но блокировало действие МС. Впервые выявлены области ДНК, с которыми контактирует МС. На основе азобензолсодержащего дуплекса предложен негидролизуемый аналог БС BspD6I, который позволяет эффективно регулировать активность никующей эндонуклеазы с помощью изменения температурного режима реакции.

Работа проводилась при поддержке гранта РФФИ № 16-34-00360 мол_a

**СНИЖЕНИЕ ТРАНСМЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА МИТОХОНДРИЙ
ИНДУЦИРУЕТ МИТОФАГИЮ И ПРЕПЯТСТВУЕТ ЭКСПАНСИИ
ЭГОИСТИЧНОЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК
В ЗИГОТАХ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

Караваяева Ю. Е.¹, Голышев С. А.², Соколов С. С.², Смирнова Е. А.², Северин Ф. Ф.²,
Кнорре Д. А.²

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, Россия

²Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
НИИ физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского, Москва, Россия

Эукариотические клетки содержат множество копий митохондриальной ДНК (мтДНК). Молекулы мтДНК, содержащие большие делеции, реплицируются быстрее, чем мтДНК дикого типа. В результате, доля таких мтДНК в клетке может возрастать со временем, что приводит к дисфункции митохондрий и развитию ряда заболеваний. Кроме того, накопление таких «нефункциональных» мтДНК в нейронах и мышечных клетках является одной из причин старения многоклеточных организмов.

В своей работе мы исследовали, как изменение функционального состояния митохондрий влияет на результаты конкуренции между полноразмерной мтДНК дикого типа и эгоистичной мтДНК. В качестве модели мы использовали клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Мы скрещивали гаплоидные клетки дрожжей дикого типа с клетками, митохондрии которых содержали эгоистичную мтДНК (HS Rho-). Эта мтДНК представляла собой короткий фрагмент мтДНК дикого типа, содержащий в себе лишь ориджины репликации и некодирующие участки ДНК. В результате скрещивания образовывались зиготы, содержащие два типа мтДНК. В контрольных условиях эгоистичная мтДНК вытесняла мтДНК дикого типа в диплоидных клетках – более 98% зигот и их потомков оказывались неспособны расти на несбраживаемых субстратах (так как были лишены возможности осуществлять окислительное фосфорилирование).

Мы обнаружили, что снижение трансмембранного потенциала митохондрий в результате проведения скрещивания в присутствии анионных разобщителей или валиномицина препятствует распространению эгоистичной мтДНК. Этот эффект значительно уменьшался в клетках дрожжей с делетированным геном ATG32, кодирующим рецептор, обеспечивающий селективную аутофагию митохондрий (митофагию). Это указывало на то, что митофагия может препятствовать экспансии мутантных форм мтДНК. В соответствии с этим мы обнаружили активацию митофагии в зиготах дрожжей под действием тех же соединений. Подавление процесса деления митохондрий препятствовало действию разобщителей на экспансию эгоистичной мтДНК.

Наши данные указывают на то, что митохондриальная динамика и митофагия играют важную роль в контроле качества мтДНК в эукариотических клетках.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-04-01381

ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫЙ ИНТЕРПРЕТАТОР ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ

Шлихт А. Г., Краморенко Н. В.

Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

Для анализа первичной структуры белков и пептидов был создан интеллектуальный интерпретатор, который на базе произвольных аминокислотных последовательностей и абстрактного банка мотивов Prosite [2] позволяет в автоматическом режиме находить конкретные мотивы. Для представления абстрактных мотивов используется стандартный синтаксис, для которого разработан специальный синтаксический анализатор. На вход интерпретатора поступают многочисленные первичные последовательности белков, представленные в реляционном формате данных. Если первичные последовательности представлены в другом формате данных (.txt, FASTA, XML) интерпретатор производит преобразование к реляционному формату для последующей обработки. На выходе интерпретатора получаем высоко структурированные массивы проанализированных данных, с координатами конкретных найденных в белках мотивов и определяется класс белков.

Иллюстрация работы интерпретатора на примере одной последовательности и одного мотива 'Homeobox' domain signature, описываемого шаблоном: [LIVMFYGG]-[ASLVR]-x(2)-[LIVMSTACN]-x-[LIVM]-{Y}-x(2)-{L}-[LIV]-[RKNQESTAIY]-[LIVFSTNKH]-W-[FYVC]-x-[NDQTAH]-x(5)-[RKNAIMW] для гена CDX2 белка NP_001256.3 автоматически найдена последовательность: LAATLGLSERQVKIWFQNRRAKER с координатами 219 – 242.

Таким образом, интерпретатор в автоматическом режиме позволяет прогонять множество произвольных последовательностей белков на множестве мотивов, определяя тем самым функциональную принадлежность белка. Банк белков формируется на основе референсного генома, а также произвольных последовательностей.

Концептуальная схема интерпретатора содержит следующие сущности: ДНК, хромосома, нуклеотид, ген, транскрипт, экзон, интрон, триплет, аминокислота, белок, мотив, мутация, класс белков, фермент, метаболит, реакция, метаболический путь, генетическая сеть, биомаркер, заболевание и др. Сущности связаны между собой многочисленными ассоциативными связями, которые формируют базу знаний экспертной системы интерпретирующей омик ситуации. На основе созданных ассоциативных связей формируются сложные логические сети, которые прослеживают различные генетические и биохимические ситуации и процессы, связанные с диагностикой заболеваний.

Наличие перекрестных связей кодов интерпретатора с кодами всемирных омик-порталов, а также многочисленные гиперссылки на них, позволили интегрировать разработанную систему в единое информационное пространство, и обеспечивать актуализацию баз данных и знаний на основе данных этих порталов. Интерпретатор является интеллектуальным дополнением экспертной системы «Полиомика» [1].

1. Шлихт, А. Г. Экспертная система «Полиомика». / А.Г. Шлихт, Н.В. Краморенко // Белки и пептиды. VII Российск.симпоз. Новосибирск, 12-17 июля 2015 г. – с.150.

2. The PROSITE database. URL: http://prosite.expasy.org/prosuser.html#conv_pa

GENETIC CODE REPROGRAMMING. THE CASE OF THE UGA-ENCODED SELENOCYSTEINE

Kossinova O.^{1,2}, Malygin A.¹, Hashem Y.², Krol A.², Karpova G.¹

¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

²Institute of Molecular and Cellular Biology CNRS, Strasbourg, France

Certain sense or nonsense codons may have meanings different from the original ones. In the latter category, a prominent example is UGA that can either encode tryptophan in mitochondria or cysteine in a few animals or the selenium-containing amino acid selenocysteine (Sec) in the three descents of life. An extreme case is the ciliate *Euplotes* where UGA encodes both cysteine and selenocysteine in the same mRNA. Sec is an active site amino acid in selenoproteins. These proteins fulfill varied oxidation-reduction functions such as defence against reactive oxygen species, sperm maturation, thyroid hormone maturation or muscle biogenesis. Sec biosynthesis and its incorporation into selenoproteins differ from the standard pathway because of the necessity to recode UGA as Sec.

This is accomplished by an orthogonal system comprising a uniquely transcribed and structurally unusual tRNA^{Sec}, tRNA^{Sec}-dependent Sec-synthesizing enzymes, the specialized translation elongation factor EF^{Sec}, distinctive caps and 3'UTR SECIS stem-loop in selenoprotein mRNAs, and finally the SECIS binding protein SBP2. Mutations in the RNA/protein components, or in the selenoproteins themselves, lead to male sterility, embryonic lethality or muscular dystrophies, attesting the importance of selenoproteins in health and disease. The SECIS RNA-SBP2 complex is pivotal by carrying the EF^{Sec}-bound Sec-tRNA^{Sec} to the A-site ribosome. Mechanistically, however, little was known of how the charged Sec-tRNA^{Sec} is properly delivered at an approaching ribosome.

To answer the question, our first goal was to understand where and when the SECIS-SBP2 complex interacts with the ribosome in the course of translation, and whether this complex is responsible for blocking access of the A-site to the release factor. The orthogonal system and experimental data will be presented. Using UV or bi-functional reagent cross-linking, we showed that SBP2 binds the SECIS or the ribosome back and forth during the various translation steps. Hydroxyl radical footprinting and chemical protection experiments of SBP2-human ribosomes complexes enabled us to identify the binding site of SBP2 on the 28S rRNA. To identify the exact binding mechanism and the residues involved in the interaction, we recently attempted to obtain cryo-EM reconstructions of the human SBP2-ribosome complex. We will pursue this goal and add *Drosophila* and the pathogenic protozoa *Trypanosoma* to the task. This will help elucidate a long-standing enigma in eukaryotic translation regulation. In addition, understanding selenocysteine incorporation in pathogenic protozoa is an invaluable step towards designing potential therapeutic drugs.

PECULIARITIES OF TRANSLATION INITIATION IN MAMMALS RELATED TO INTERPLAY OF RIBOSOMAL PROTEIN US3, INITIATION FACTOR EIF3J AND MRNA

Graifer D. M.^{1,2}, Sharifulin D. E.¹, Bartuli Y. S.¹, Meschaninova M. I.¹,
Ven'yaminova A. G.¹, Karpova G. G.^{1,2}

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

Ribosomal protein (rp) uS3 is a structural element of the mammalian 40S ribosomal mRNA entry channel. Recently, with the use of various RNA derivatives bearing 3'-terminal ribose oxidized to dialdehyde capable of cross-linking to proteins, we have found that rp uS3 within the 40S subunit is able to interact with unstructured RNAs. Site of the cross-linking was mapped to the peptide in positions 55–64 located away from the mRNA binding site.

In this work, we studied how the accessibility of this peptide to RNAs binding changes upon the translation initiation. In particular, we examined the accessibility of rp uS3 for cross-linking of unstructured RNAs in 48S preinitiation complexes (48S PICs) and 80S initiation complexes (80S ICs) assembled in rabbit reticulocyte lysate on model synthetic mRNAs as well as on full-length or truncated up to the initiation AUG codon hepatitis C virus (HCV) IRES. We found that the RNA binding peptide of rp uS3 becomes shielded in 48S PICs assembled on mRNAs with coding sequences comprising not more than 4 nt after the start codon. This effect is peculiar for 48S PICs irrespectively on the way of their formation (either conventional scanning-dependent or mediated by HCV IRES), and is caused by the initiation factor subunit eIF3j that seems to be directly implicated in the interaction with rp uS3. We for the first time demonstrate that in 48S PICs eIF3j binding site physically overlaps with binding site of mRNA coding sequence, therefore, now it is clear that the factor dissociates from the PIC after recognition of the AUG codon as soon as the coding sequence is inserted into the mRNA binding site.

All this suggests that eIF3j is involved in mRNA recruitment at the step of 43S PIC formation and its action does not relate to scanning. Another potential functional role of the RNA-binding rp uS3 peptide in the cell might relate to regulation of translation via its interaction with some single-stranded RNAs, which would affect the properties of the translating ribosome. It is reasonable to assume that loading of mRNA to the mRNA binding channel with following dissociation of eIF3j from the 40S subunits triggers the regulation process.

This study was supported by RFBR (grant № 14-04-00709 to G.G.K.), by the Program "Molecular and Cell Biology" of the Presidium of the RAS (grant № 0309-2015-0024 to G.G.K.) and by the Russian State funded budget project 57.1.2 (0309-2014-0002)

INVOLVEMENT OF HUMAN RIBOSOMAL PROTEIN E1 IN THE U11 SNRNA BIOGENESIS

Gopanenko A. V.^{1,2}, Malygin A. A.^{1,2}, Tupikin A. E.¹, Laktionov P. P.¹, Kabilov M. R.¹, Karpova G. G.^{1,2}

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

Ribosomal proteins are involved in various cellular processes via the interaction with a diversity of RNAs. In this work, we studied cellular non-ribosomal RNA-partners of human ribosomal protein (rp) eS1 using photoactivatable-ribonucleoside-enhanced crosslinking and immunoprecipitation (PAR-CLIP) approach. The potential rp eS1 site, which would provide the protein interaction with these RNA, was predicted to be located at the very end of the N-terminal portion of the rp eS1. To apply PAR-CLIP approach to HEK293 cells, we obtained cell line inducibly generating FLAG-tagged rp eS1 (FLAG-eS1) and showed that ectopically produced target protein was able to incorporate in translating ribosome. In the cells treated with 4-thiouridine, FLAG-eS1 was cross-linked to RNA much effectively than in those treated with 6-thioguanosine. Next generation sequencing (NGS) of RNA fragments cross-linked to the target protein revealed U11 and U5 snRNAs as partners of human rp eS1, besides rRNA. The cross-linking sites in these snRNAs were identified in their U-rich sequences by characteristic T/C transitions in the NGS data.

In vitro binding assays utilizing U11 and U5 snRNA transcripts and recombinant rp eS1 (His6-eS1) showed that the protein affinity for U11 snRNA is much higher than that for U5 snRNA, while the ribosome-bound rp eS1 was not able to bind and cross-link to these RNAs at all. Chemical probing of U11 snRNA transcript bound to His6-eS1 displayed protections of the nucleotides in Loop 1 and the basal part of Stem 1a and major rearrangements of the RNA backbone in the U-rich strand containing the Sm site. Applying site-specific proteolytic digestion of His6-eS1 cross-linked to 4-thiouridine-containing U11 snRNA, we identified short peptide 9-29 within the N-terminal region of rp eS1 that is engaged in the cross-linking, being in exact accordance with the prediction data. NGS data obtained with the HEK293 cells depleted of rp eS1 revealed the higher level of the 3' end unprocessed U11 pre-snRNA in these cells as compared to that observed in normal cells.

Our findings provide for the first time evidences of engaging of the ribosome-free rp eS1 in the cellular processes relating to U11 snRNA maturation and minor spliceosome assembly and thus greatly expand the currently existing knowledge of the extra-ribosomal functions of human ribosomal proteins.

This work was supported by a grant from the RFBR (grant № 14-04-00740 to A.A.M.) and by the Program "Molecular and Cell Biology" of the Presidium of the RAS (grant № 0309-2015-0024 to G.G.K.)

БЕЛКИ YB-1 И NSUN2 КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ УЧАСТНИКИ ПРОЦЕССА СОРТИНГА МРНК В ЭКЗОСОМЫ

Малыгин А. А.^{1,2}, Косинова О. А.¹, Гопаненко А. В.^{1,2}, Яньшина Д. Д.¹, Тамкович С. Н.^{1,2}, Крашенинина О. А.¹, Тупикин А. Е.¹, Киселёва Е. В.³, Веняминаова А. Г.¹, Кабилов М. Р.¹, Карпова Г. Г.^{1,2}

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

³*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

Экзосомы – мембранные везикулы, содержащие большой набор РНК и белков, которые секретируются различными клетками и участвуют в межклеточной коммуникации. В настоящее время отсутствует понимание того, как происходит процесс отбора (сортинг) конкретных клеточных РНК в экзосомы. Ранее, с использованием методов биоинформатики были выявлены три специфических структурных мотива ACCAGCCU (1), CAGUGAGC (2) и UAAUCCCA (3), наиболее часто встречающиеся в шпилечных структурах экзосомальных мРНК.

В данной работе с помощью аффинной селекции белков цитоплазматического экстракта клеток НЕК293 с использованием коротких шпилечных РНК, содержащих конкретный структурный мотив, мы идентифицировали белки YB-1 и NSUN2 – потенциальные участники экзосомального сортирования мРНК. Оказалось, что YB-1 специфично связывается со всеми тремя мотивами, узнавая их, будучи фосфорилированным по сайту, ответственному за его удержание в цитоплазме, в то время как NSUN2, также в фосфорилированной форме, узнаёт только мотив 2. Оба этих белка были обнаружены нами внутри экзосом, секретируемых клетками НЕК293, при этом YB-1 становился дефосфорилированным, когда попадал в экзосомы. С помощью высокопроизводительного секвенирования показано, что РНК, выделенная из экзосом, секретируемых клетками НЕК293, представлена различными видами клеточных РНК, включая мРНК, содержащие перечисленные выше специфические структурные мотивы. Степень обогащения экзосом такими мРНК сильно зависела от расположения конкретного структурного мотива в структуре мРНК. Так, обогащёнными в экзосомах оказались мРНК, в которых мотив 2 был расположен в 5'-НТО, мотив 1 – в 3'-НТО или кодирующей части, а мотив 3 – в любой части мРНК. Напротив, экзосомы были обеднены по мРНК, содержащими мотив 1 в 5'-НТО, указывая, что мРНК такого вида не переносятся в экзосомы.

Полученные данные указывают на то, что белки YB-1 и NSUN2, узнающие специфические структурные мотивы РНК, могли бы выступать в качестве посредников при сортировании мРНК в экзосомы. Молекулярные механизмы переноса мРНК в экзосомы, опосредованного этими белками, обсуждаются.

Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-00777, программой Президиума РАН "Молекулярная и клеточная биология" (грант № 0309-2015-0024) и базовым проектом Программы фундаментальных исследований государственных академий наук (№ 0309-2014-0002)

INTERACTION OF ISOLATED AND 40S SUBUNIT-BOUND HUMAN RIBOSOMAL PROTEIN U3 WITH ABASIC SITES IN DNA

Grosheva A. S.¹, Zharkov D. O.^{1,2}, Stahl J.³, Graifer D. M.^{1,2}, Karpova G. G.^{1,2}

1Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

2Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

3Max-Delbrück-Center for Molecular Medicine, Berlin, Germany

It is known that isolated human ribosomal protein uS3 (rp uS3) has multiple extra-ribosomal functions including those related to base excision repair, e.g., it catalyzes nicking of double-stranded (ds) DNA 3' to the abasic (AP) site by β -elimination (AP lyase activity). We performed a comparative analysis of the interaction of isolated recombinant human rp uS3 and of the ribosome-bound protein with single-stranded (ss) and dsDNAs bearing various model oxidative lesions including AP site.

The results of our study show that human rp uS3 can be involved in two different kinds of non-translational interactions implicating AP sites in DNA, allowing discrimination between the functions of the isolated and ribosome-bound protein. One of these functions concerns AP lyase activity of the protein; we revealed here two new things concerning this activity of rp uS3. First, we found that it is inherent to the isolated rp uS3 but not to the ribosome-bound protein; second, we revealed that the protein prefers ssDNA against dsDNA as a substrate. This indicates that free rp uS3 might be implicated in repair of rDNA in nucleolus, where it transiently occurs in single stranded state in the course of transcription. Another non-translational function, peculiar to the ribosome-bound rp uS3 rather than the isolated protein, relates to its capability of attachment to AP sites of ssDNAs without their cleavage via a fragment of the protein's KH domain exposed on the ribosomal subunit surface. This interaction, evidently, does not relate to DNA repair. We suggest that under conditions of massive oxidative stress when the content of AP sites in DNA is much higher than usual, attachment of ribosome-bound rp uS3 to ssDNA in the course of its transcription becomes rather probable. It would arrest DNA transcription and ribosome biogenesis coupled to it and thereby save energy for the cell to be utilized in other processes.

Thus, our results indicate that isolated rp uS3 is implicated in rDNA repair in nucleolus, while the ribosome-bound protein might be involved in regulation of rDNA transcription under oxidative stress conditions due to its ability to attach AP sites by its KH domain fragment. Establishing particular cellular mechanisms providing the discussed interactions of isolated and ribosome-bound rp uS3 with AP sites in DNA is the next frontier of investigations.

This work was supported by grants from the RFBR (№ 16-04-00241 to D.G.) and partially by the Russian State funded budget project 57.1.2 (0309-2014-0002)

АНАЛИЗ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЭКЗОСОМ КРОВИ В НОРМЕ И ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Тутанов О. С.¹, Сомов А. К.¹, Тамкович С. Н.¹, Бакакина Ю. С.², Дубовская Л. В.², Юнусова Н. В.³, Волоотовский И. Д.², Кирюшина Н. А.⁴, Войцицкий В. Е.⁴, Лактионов П. П.¹

1Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

2Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

3Томский НИИ онкологии, Томск, Россия

4Новосибирский областной клинический онкологический диспансер, Новосибирск, Россия

Сравнительное изучение протеома экзосом, циркулирующих в крови здоровых доноров и онкологических больных, представляет особый интерес, поскольку выделение экзосом позволяет удалить балластные белки крови, обогатиться опухолеспецифическими белками, в том числе мембранными опухолеспецифическими белками, которые крайне сложно выявить в плазме крови. Действительно, поскольку секретируемые опухолевыми клетками экзосомы содержат белки этих клеток, выделение экзосом позволяет сконцентрировать образец и получить достаточное для анализа количество биологического материала.

Целью работы являлось выделение, характеристика и сравнительный анализ протеома экзосом плазмы крови в норме и при раке молочной железы.

Препараты экзосом из плазмы крови здоровых женщин (ЗЖ, n=10) и первичных больных раком молочной железы (РМЖ), (n=10, T₁₋₂N₀M₀) получали путем последовательной ультрафильтрации и ультрацентрифугирования [1], характеризовали при помощи проточной цитофлуорометрии, используя антитела против CD9 и CD24 (Abcam) и флуоресцентно-меченные антитела против CD9, CD63, CD81, CD24 (BD). Размер и количество везикул определяли при помощи анализатора частиц Malvern NS-300. Концентрацию белка в препаратах экзосом определяли при помощи NanoOrange Protein Quantitation kit. Для получения протеомных карт экзосом использовали метод двумерного гель-электрофореза в ПААГ.

Полученные препараты микровезикул из плазмы крови ЗЖ и больных РМЖ содержат экзосомы размером 75-116 нм и 95-158 нм, соответственно. По убыванию медианы интенсивности флуоресценции в крови ЗЖ и больных РМЖ были идентифицированы следующие субпопуляции экзосом: CD24/CD9 > CD9/CD81 > CD9/CD63 = CD24/CD63. Показано, что содержание экзосом крови в норме и при онкологических заболеваниях не изменяется (4.08×10^7 и 3.99×10^7 частиц/мл крови ЗЖ и больных РМЖ, соответственно), в составе экзосом циркулирует не более ~ 0,01% от общего белка плазмы крови. Сравнительный анализ полученных протеомных карт для каждой группы позволил установить значимые различия, в частности - появление новых дополнительных белков и изменение экспрессии присутствующих в норме белков. На следующем этапе работы планируется идентифицировать потенциальные биомаркеры РМЖ при помощи масс-спектропии.

1. Тамкович С. Н., Лактионов П. П., Тутанов О. С. и др. Способ получения экзосом из крови. Патент РФ 2556825 от 18.06.2015.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ, ОПОСРЕДУЮЩИХ ТРАНСПОРТ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ДНК В КРОВОТОКЕ

Тутанов О. С.¹, Тамкович С. Н.^{1,2}, Шлихт А. Г.³, Беленикин М. С.⁴, Кирюшина Н. А.⁵, Сердюков Д. С.², Войцицкий В. Е.⁵, Центалович Ю. П.⁶, Лактионов П. П.^{1,7}

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

⁴Медицинский университет им. Пирогова, Москва, Россия

⁵Новосибирский областной клинический онкологический диспансер, Новосибирск, Россия

⁶Институт Международный Томографический Центр СО РАН, Новосибирск, Россия

⁷Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения имени академика Е.Н. Мешалкина Министерства здравоохранения РФ, Новосибирск, Россия

Известно, что внеклеточные ДНК крови защищены от действия нуклеаз и циркулируют в составе апоптотических телец, нуклеосом, комплексов с ДНК-связывающими белками крови. Однако систематического исследования состава циркулирующих в кровотоке нуклеопротеиновых комплексов (НПК) до сих пор не было выполнено.

Целью работы является исследование белкового состава НПК, циркулирующих в плазме крови здоровых женщин (ЗЖ, n = 10) и первичных больных раком молочной железы (РМЖ, n = 10) на начальных стадиях заболевания (T1-2N0M0).

НПК из плазмы крови ЗЖ и больных РМЖ выделяли аффинной хроматографией на сорбентах с иммобилизованными антителами против гистонов [1]. Размер ДНК в составе НПК оценивали с помощью капиллярного электрофореза Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA) с использованием High Sensitivity DNA Kit, белки разделяли SDS-ПААГ и идентифицировали методом масс спектрометрии.

Установлено, что в составе гистон-содержащих НПК, так же как и в плазме крови ЗЖ, преобладает ДНК длиной 170-180 п.н., в крови и НПК больных РМЖ - ДНК длиной 170-180 п.н. и более 6 т.п.н. представлены в равном количестве. В составе циркулирующих НПК в крови ЗЖ и больных РМЖ методом MALDI-TOF-масс-спектрометрии достоверно (score более 56) идентифицировано 182 и 170 белков, соответственно. Установлено, что наиболее распространенными ДНК-связывающими мотивами в составе НПК плазмы крови являются мультидоменный цинковый палец Cys2His2, цинковый палец Cys-X2-CysX17-Cys-X2-Cys и лейциновая молния N-X7-R-X9-L-X6-L-X6-L. Наиболее универсальными белками НПК плазмы крови (представлены более чем в 40% всех образцов) являются Инсулин-деградирующий фермент, белок гомеобокса Нох-С5 и G-белок-ассоциированный рецептор 22. В составе НПК крови больных РМЖ выявлено 129 белков, не обнаруженных в НПК ЗЖ, из которых 53 белка (41%) известны как опухоли-ассоциированные белки. Эти данные могут свидетельствовать об опухолевом происхождении НПК и быть использованы для селективного выделения опухоли-специфической ДНК.

1. Тамкович С. Н., Сердюков Д. С., Тутанов О. С. и др. 2015. Биоорганическая химия. Т. 41, С. 686-695.

ФАКТОР МОЛОКА ЧЕЛОВЕКА, СТИМУЛИРУЮЩИЙ ОБМЕН ИММУНОГЛОБУЛИНОВ HL-ФРАГМЕНТАМИ

Седых С. Е.^{1,2}, Принц В. В.², Бунева В. Н.^{1,2}, Невинский Г. А.^{1,2}

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

Согласно классическим представлениям, молекулы иммуноглобулинов содержат два одинаковых антигенсвязывающих центра. Ранее для IgG4 *in vivo* был показан обмен HL-фрагментами, который приводит к появлению биспецифичных иммуноглобулинов. Такой обмен происходит также *in vitro*, в присутствии восстановленного глутатиона. Для других классов и подклассов природных иммуноглобулинов, в аналогичных условиях, обмена HL-фрагментами не был подтвержден.

Нами был показан обмен HL-фрагментами для всех подклассов IgG и для sIgA молока человека. Данный процесс происходит *in vitro* в присутствии плазмы молока и восстановленного глутатиона, а также *in vivo*, в молоке человека. В результате обмена HL-фрагментами молоко содержит до 30-40% биспецифичных иммуноглобулинов, которые являются причиной их полиспецифичности связывания и каталитической полиреактивности. Фактор молока, стимулирующий этот процесс, до настоящего времени не был установлен.

Целью данной работы было выделение и идентификация фактора молока человека, стимулирующего обмен HL-фрагментами между молекулами иммуноглобулинов, а также установление ключевых стадий процесса обмена HL-фрагментами.

В ходе работы из молока человека аффинной хроматографией на гепарин-сефарозе была выделена фракция, стимулирующая обмен HL-фрагментами. С помощью ИФА, электрофоретического анализа и MALDI-TOF масс-спектрометрии установлено, что полученная фракция представлена лактоферрином. Аффинной хроматографией на IgG-сефарозе и лактоферрин-сефарозе было показано, что лактоферрин образует комплекс с иммуноглобулинами. Также было установлено, что глутатион восстанавливает дисульфидные связи между цепями иммуноглобулинов, а лактоферрин обеспечивает диссоциацию иммуноглобулина на два HL-фрагмента.

Таким образом, лактоферрин молока человека стимулирует обмен HL-фрагментами между молекулами иммуноглобулинов в присутствии восстановленного глутатиона.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-34-00163 мол_а

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В БЕЛКОВОМ ПРОФИЛЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ БИПОЛЯРНЫМ РАССТРОЙСТВОМ И ШИЗОФРЕНИЕЙ

Черноносков А. А.¹, Алексеева И. В.¹, Тимофеева Н. А.¹, Иванова С. А.²,
Симуткин Г. Г.², Федорова О. С.¹

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

²*Научно-исследовательский институт психического здоровья, Томск, Россия*

Несмотря на преобладающую в настоящее время дофаминовую теорию, объясняющую причины заболевания шизофренией и маниакально-депрессивным психозом, сложность диагностики и классификации психических заболеваний обуславливает необходимость поиска новых биомаркеров. В качестве таких потенциальных биомаркеров можно рассматривать белки в сыворотке крови пациентов, не характерные для здоровых людей, или изменения количества определенных белков, присутствующих в сыворотке крови пациентов и здоровых лиц.

Целью данной работы являлось сравнение белковых профилей больных биполярным расстройством и шизофренией с белковым профилем здоровых людей для поиска кандидатов в биомаркеры данных заболеваний. Объектами исследования служили образцы сыворотки крови пациентов, проходящих курс стационарного лечения в отделении аффективных состояний, а в качестве контрольной группы была использована сыворотка крови 10 здоровых доноров. Белки сыворотки крови разделяли с помощью 2D-гель-электрофореза и анализировали методом MALDI-TOF MS/MS на масс-спектрометре Autoflex Speed (Bruker Daltonics, Германия).

На первом этапе работы проводили иммуноаффинную хроматографию для выделения минорных белков крови. После разделения белков методом двумерного гель-электрофореза участки геля, соответствующие белкам, имеющим отличный от контроля (в большую или меньшую сторону) уровень экспрессии, вырезали и обрабатывали трипсином. Полученный набор пептидов анализировали методом MS и MS/MS. Идентификацию пептидов проводили по базе данных NCBI с использованием поисковой системы Mascot.

В результате были определены количественные изменения в белковых профилях пациентов с биполярным расстройством и шизофренией, которые могут выступать в качестве потенциальных биомаркеров. Были обнаружены различия в уровне белков сыворотки крови, таких как аполипопротеины классов А и С, транстиретин, сывороточный амилоид А1 и ретинол-связывающий белок. Полученные нами данные по различию в концентрации белков сыворотки крови (транстиретина и сывороточного амилоида) хорошо согласуются с работами по изучению спинномозговой жидкости или постмортальных тканей мозга с помощью альтернативных подходов (ВЭЖХ с ESI MS с или ВЭЖХ с ЯМР).

Работа поддержана грантом РНФ № 14-15-00480

IN VITRO SELECTION OF CELL-INTERNALIZING 2'-MODIFIED RNA APTAMERS AGAINST *P. AERUGINOSA*

Davydova A. S., Vorobyeva M. A., Kabilov M. R., Tikunova N. V., Pyshnyi D. V. and Venyaminova A. G.

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

Infectious diseases that result from the presence of pathogenic viral or bacterial agents are the major cause of human pathogenesis and mortality, surpassing cardiovascular diseases and cancer. Despite of the existence of a large variety of antibacterial drugs, the problems of side-effects and drug-resistance are still unsolved. *Pseudomonas aeruginosa* is a common gram-negative bacterium that can cause diseases in animals, including humans. It is the most common cause of nosocomial infections. High antibiotic resistance and low permeability of bacterial cellular envelopes are the most important characteristics of *P. aeruginosa*. Therefore, aptamers targeting *P. aeruginosa* could be promising agents for diagnostics and therapy, providing an alternative to traditional antibiotics and laboratory tests. Aptamers have a number of unique properties, such as high binding specificity, low immunogenicity and possibility of chemical synthesis and modifications.

A goal of a present study was a selection of RNA aptamers internalizing into *P. aeruginosa* cells. Improved biological stability of RNA aptamers was provided by replacement of all pyrimidine nucleotides by their 2'-F-analogs. A modified bacterial SELEX protocol was developed in order to obtain only cell-internalizing aptamers. In particular, after incubation of RNA library with bacterial suspension and washing of unbound RNA molecules, cells were treated by RNase A/RNase T1 mixture. This step allows cleaving of RNA molecules bound on the cell surface, providing that only internalized ones should be taken to next stage. After 10 rounds of *in vitro* selection, enriched RNA library was converted into dsDNA form and then sequenced on MySeq platform. Data analysis revealed several candidate sequences that were used for further investigation. Cell internalization of candidate aptamers was demonstrated by RT-PCR assay. It was also shown that the enriched 2'-F-RNA library after 10th round internalizes more efficiently as compared to individual aptamers. Taking this into account, we hypothesized that RNA aptamers could be internalized as heterodimeric complexes.

To summarize, in this study we developed a new protocol for selection of bacteria-internalizing 2'-F-RNA aptamers, and proved its feasibility by the selection of aptamers capable to internalize into *P. aeruginosa*.

This work was supported by the Grant of the RF Government for support to scientific research projects implemented under the supervision of the world's leading scientists, agreement No. 14.B25.31.0028

СОВРЕМЕННЫЕ РЕШЕНИЯ ДЛЯ АНАЛИЗА КОНЦЕНТРАЦИИ И ЧИСТОТЫ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ С ПОМОЩЬЮ УФ/ВИД СПЕКТРОМЕТРИИ

Шайхлисламова А.Р., Сенечко А.Я.

АО "Меттлер-Толедо Восток"

Качественный и количественный анализ нуклеиновых кислот имеет решающее значение в процессах выделения и очистки и в большинстве биологических лабораторий выполняется на УФ/ВИД спектрофотометрах. Использование некачественной ДНК или ее неверной концентрации может привести к ошибочным результатам, что приведет к повторному анализу с потерей времени и образцов.

Спектрофотометры UV5Nano и UV5Bio производства МЕТТЛЕР ТОЛЕДО – это специализированные приборы для количественного и качественного анализа нуклеиновых кислот, белков по методу Бредфорда, Лоури и другим биологическим приложениям. Библиотека красителей и предустановленные методики позволяют сразу приступить к работе и гарантируют качество и точность результатов.

УФ-ВИД спектроскопия микрообъема подходит для образцов малого объема или с большим коэффициентом поглощения. Образец без разбавления (что исключает дополнительные ошибки) наносят на измерительную поверхность UV5Nano, и крышка точно фиксируется на выбранной длине оптического пути. Всего 1 мкл образца позволяет получить достоверный результат. Запатентованная технология LockPath позволяет проводить количественные измерения в широком диапазоне концентраций от 6 до 15 000 нг/мкл дцДНК автоматически на двух длинах оптического пути (0,1 или 1 мм). Конструкция крышки эффективно предотвращает испарение образца во время измерения.

Современные спектрофотометры МЕТТЛЕР ТОЛЕДО работают на основе технологии FastTrack, сочетающей оптоволокну с матричным детектором и импульсной ксеноновой лампой. Сканирование полного спектра выполняется всего за 1 секунду, что значительно экономит время. Стабильность интенсивности лампы существенно повышает производительность, так как при работе с сериями образцов не требуется проводить многочисленные параллельные измерения.

ПО LabX UV/VIS дополняет возможности приборов UV5Nano и UV5Bio современным графическим редактором для обработки спектров и позволяет автоматизировать математическую обработку анализа, документирование результатов, минимизировать человеческий фактор при обработке результатов анализа.

**RNA APTAMERS AGAINST AUTOANTIBODIES
ASSOCIATED WITH MULTIPLE SCLEROSIS:
SELECTION, DESIGN AND PROSPECTS OF APPLICATION**

Vorobyeva M. A.¹, Timoshenko V. V.¹, Krasitskaya V. V.², Kabilov M. R.¹,
Nevinsky G. A.¹, Frank L. A.², Venyaminova A. G.¹

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Institute of Biophysics SB RAS, Krasnoyarsk, Russia*

Multiple sclerosis (MS) is a chronic autoimmune disorder of human central nervous system. It is characterized by the destruction of myelin shell and progressive neurodegeneration. Early diagnostics and adequate disease management make it possible to modify the course of the disease and to slow its progression. Diagnostics of MS, especially at its early stages, is a complex task that includes the analysis of clinical and laboratory data together with MRI results. To date, there are no specific laboratory tests to establish the diagnosis of MS. A presence of specific proteolytic autoantibodies against myelin basic protein (MBP) is now considered as a characteristic feature of MS. We proposed a new approach to MS laboratory diagnostics, based on the use of 2'-modified RNA aptamers that specifically recognize these antibodies.

To obtain RNA aptamers, polyclonal anti-MBP IgGs isolated from blood of MS patients were used as SELEX targets. To improve the resistance of aptamers towards serum nucleases, all pyrimidine nucleosides in RNA libraries were replaced by their 2'-fluoro analogs. After sequencing of enriched libraries and analysis of the obtained data, candidate aptamer sequences were taken for subsequent studies. Screening of their affinity and specificity led to the choice of the most efficient 2'-F-RNA aptamers. A series of sequence minimization experiments for 71-nt aptamers resulted in their shortening up to 57 nt (aptamer 2-9c) and 26 nt (aptamer 12-2b). These aptamers demonstrated high affinity and specificity while binding to anti-MBP autoantibodies, both in model systems and in total IgG samples isolated from blood of MS patients.

Optimized aptamers were then employed as recognizing elements for bioluminescent aptasensors. Photoprotein obelin was taken as highly sensitive bioluminescent reporter. Two types of microplate aptasensors were designed, with aptamers as primary analyte-capturing components or as secondary components bearing the reporter group. For both types, a possibility of sensitive and specific detection of anti-MBP autoantibodies was shown.

To summarize, our results demonstrate high affinity and specificity of new 2'-F-RNA aptamers against MS-related autoantibodies, and prove their feasibility as recognizing elements for specific aptasensors. We suppose that the strategy developed in this study could be adapted as well to create diagnostic aptasensors for detection of autoantibodies related to other autoimmune diseases.

The work was supported by RFBR grant № 14-04-01611

Young scientist session

REGULATORY RNAs OF HUMAN BLOOD EXTRACELLULAR STRUCTURES

Savelyeva A. V.^{1,2}, Kuligina E. V.¹, Morozov V. V.^{1,3}, Richter V. A.¹, Semenov D. V.¹

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

³*Center of New Medical Technologies, Novosibirsk, Russia*

Regulatory RNAs are secreted by cells as the components of membrane structures (exosomes, microvesicles, apoptotic bodies) and cell-free ribonucleoprotein complexes. The latest studies of extracellular RNAs are focused on microRNAs and mRNAs and their role in cell-to-cell communication processes. However, it is shown that secretome of human cultured cells and blood plasma contains other species of cellular RNAs, including long non-coding RNAs, which involved in the regulation of vital cellular processes.

The aim of this study was to provide the detailed description of human blood regulatory circulating RNAs. For the analysis of extracellular circulating complexes blood was processed with a series of sequential centrifugations at 1200, 16 000 and 160 000g and fractions of blood formed elements, plasma, membrane particles with high and low flow density, as well as vesicle-free supernatant were obtained.

Using transmission electron microscopy and flow cytometry it was determined that blood particles pelleted at 16 000 and 160 000g are 40-100 nm membrane particles (and their aggregates) with the surface markers of T-cells and platelets. High-throughput SOLiD sequencing of RNAs from blood fractions revealed that extracellular circulated complexes contain fragments of rRNAs, tRNAs, mtRNAs, snRNAs, snoRNAs, scRNAs, microRNAs, mRNAs, lncRNAs and also circular RNAs.

Circular RNAs is a novel class of non-coding regulatory RNAs, which involved in the regulation of transcription and translation processes. Moreover it was shown that progression of several neurologic and oncologic diseases is correlated with the alterations in the level of circular RNAs. Using high-throughput sequencing data we identified 88 unique circular RNAs of formed elements and vesicles from human blood. The distribution analysis of 13 circular RNAs was performed using real-time RT-PCR. It was shown that full-length transcripts of circular RNAs are detected in blood formed elements and extracellular membrane particles and not detected in samples of plasma, depleted with membrane micro- and nanovesicles. Obtained results, together with the literature data, allow us to suppose that circular RNAs are involved in local and distant processes of intercellular communication mediated by circulating membrane particles.

The reported study was funded by grants RFBR 16-04-01457 and RSF 16-14-10284

SEARCH FOR AN OPTIMAL OLIGONUCLEOTIDE FOR SELECTIVE TARGETING TO MATURE MIRNA

Miroshnichenko S. K., Patutina O. A., Mironova N. L., Lomzov A. A., Zenkova M. A.

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia

In the pathogenesis of malignancies active regulatory role belongs to small non-coding RNAs – microRNA (miRNA). miRNA expression profiles are often associated with prognosis and therapeutic outcome of different oncological diseases. It is well known that in comparison with normal tissues cancer cells are characterized by hyperexpression of oncogenic miRNAs which lead to oncogenic transformation, carcinogenesis and metastasis progression. Selective down-regulation of miRNA expression by specific agents, such as antisense oligonucleotides that recognize particular sequences is therefore can be an effective tool to regulate the amount of miRNA in cancer cells and decrease tumour malignancy.

In this work screening of specific antisense oligonucleotides of different length and structure by efficiency of binding to the oncogenic miRNA-21 was performed. Linear and hairpin deoxyribooligonucleotides with the length of antisense sequence of 10-16 nucleotides targeted to the 5'- or the 3'-end of miRNA target have been studied. Hairpin oligonucleotides consist of complementary addressed sequence and a hairpin containing four-nucleotide loop and stem of 6 or 9 nucleotides, which presumably increase binding efficiency with miRNA-21.

It has been shown that addition of the hairpin to the oligonucleotide structure lead to 1.6-fold increase in binding efficacy with miRNA-21 in comparison with linear oligonucleotides. Hairpin oligonucleotides with antisense sequence of 14 nucleotides effectively hybridize with miRNA-21 without significant difference in complex formation efficiency compared to oligonucleotides with complementary sequence of 16 nucleotides. As a result, two oligonucleotides with antisense sequence of 14 nucleotides and hairpin with the stems of 6 and 9 bp were chosen as perspective candidates for selective and effective sequestering of mature miRNA-21.

This work is supported by Grant of Russian Science Foundation No. 14-44-00068, Scientific Schools SS-7623.2016.4 and RFBR grant No. 14-04-01007a.

MOLECULAR MECHANISMS OF ANTIPROLIFERATIVE AND INTERFERON-INDUCING ACTIVITY OF SHORT IMMUNOSTIMULATING RNA

Zhorov M. I., Kabilova T. O., Vlassov V. V., Zenkova M. A., Chernolovskaya E. L.

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

Short double-stranded RNAs are able to activate the innate immune system depending on their structure, sequence and method of delivery. The immunostimulatory activity of RNA can be applied to antiviral and antitumor therapy. Recently, we designed a series of short double-stranded RNAs that possess pronounced antiproliferative activity in cancer cells, and antitumor, antimetastatic activities in melanoma-bearing C57Bl/6 mice. isRNA under study did not have substantial homology to any human or mouse mRNAs. The aim of this study was to identify cellular receptors responsible for antiproliferative activity of isRNA, and to define isolated from PBMC immune cell types, which mediate interferon-inducing activity of isRNA. To identify cellular sensors of isRNA, we obtained the lines of KB-3-1 cells stably expressing short hairpin RNAs (shRNA) targeted TLR7/8, LGP2, MDA5 or PKR genes. For this purpose we used lentiviral constructions encoding shRNAs.

The results show that selective inhibition of PKR and TLR8 expression by shRNA-expressing lentiviruses blocks antiproliferative effect of isRNA, inhibition of LGP2 and MDA5 expression reduces the biological effect of isRNA, while TLR7 is not involved in antiproliferative activity of isRNA. The involvement of PKR-mediated pathway in intracellular signaling activated by isRNA was confirmed by the data obtained using specific inhibitor of PKR 2-aminopurine. We show, that the pretreatment of KB-3-1 cells with 2-aminopurine entirely abolished the antiproliferative activity of isRNA.

To identify the effector cells of isRNA the individual types of immune cells (NK, T cells, B cells, dendritic cells, monocytes and macrophages) were isolated by immunomagnetic sorption. Study of interferon-inducing activity of isRNA in different immune cell types showed that dendritic cells, monocytes and B cells produce IFN- α in response to the isRNA, while NK, T cells and macrophages did not secrete IFN- α . Thus, the effector cells, which mediate immunostimulatory activity of isRNA, are antigen presenting cells of innate and adaptive immunity.

The obtained results revealed the isRNA can exhibit its antitumor activity according to two mechanisms: blocking tumor cells proliferation and inducing immune response against tumor.

This work was supported by the Russian Scientific Foundation (grant No 16-15-10105), and by the grant of Scientific Schools (No. 7623.2016.4).

МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ Y-ВОХ-СВЯЗЫВАЮЩИЙ БЕЛОК 1 КАК НЕКАНОНИЧЕСКИЙ ФАКТОР РЕПАРАЦИИ ДНК

Алемасова Е. Э.¹, Пестряков П. Е.¹, Науменко К. Н.^{1,2}, Моор Н. А.¹, Лаврик О. И.^{1,2}

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

Для эффективного ответа клетки на повреждение ДНК необходима точная координация активностей ферментов репарации на повреждениях ДНК. Тонкая регуляция достигается с помощью посттрансляционных модификаций и межбелковых взаимодействий белков ответа клетки на повреждение ДНК и может быть опосредована неканоническими вспомогательными факторами.

Y-box-связывающий белок 1 (YB-1) является транскрипционным фактором и вовлечён во множество клеточных процессов, главным образом имеющих отношение к метаболизму нуклеиновых кислот. YB-1 обладает выраженной мультивалентностью, т.к. способен взаимодействовать с ДНК, РНК, поли(АДФ-рибозой) и большим количеством белков, в число которых входят ферменты различных систем репарации ДНК. Особенностью YB-1 является его накопление в ядре клетки в условиях генотоксического стресса. Большая часть структуры YB-1 функционально неупорядочена, что является отличительной чертой ключевых регуляторных белков клетки. Однако роль YB-1 в репарации ДНК до сих пор не изучена.

Целью настоящей работы было исследование способности YB-1 участвовать в процессе эксцизионной репарации оснований ДНК (ЭРО) в качестве вспомогательного регуляторного белка. С использованием метода флуоресцентного титрования мы установили физическое взаимодействие YB-1 с ключевыми белками ЭРО: APE1, NEIL1, Pol β , PARP1, PARP2 и ДНК-связывающим фрагментом PARP1 – p24 и определили количественные характеристики взаимодействия. Было показано, что YB-1 ингибирует APE1-зависимое и стимулирует NEIL1-зависимое расщепление апуринового/апиримидинового сайта в составе оксидативного кластерного повреждения модельной ДНК-структуры. Мы также обнаружили ингибирующее действие YB-1 на 5'-дезоксирибозофосфат лиазную активность Pol β . Впервые показана новая посттрансляционная модификация YB-1 – поли(АДФ-рибозил)ирование ферментами PARP1 и PARP2 в присутствии повреждённой ДНК. Ковалентное присоединение полимера поли(АДФ-рибозы) приводило к резкому снижению сродства YB-1 к ДНК и исчезновению ингибиторного эффекта YB-1 на активность APE1.

Полученные результаты не только демонстрируют способность YB-1 модулировать процесс ЭРО, но и открывают широкие перспективы для дальнейших исследований, поскольку поли(АДФ-рибоз)илирование YB-1 может вносить свой вклад во множественные функции YB-1 в клетке.

Работа выполнена при поддержке стипендии Президента РФ для молодых учёных и аспирантов и гранта РНФ (14-24-00038)

KU-АНТИГЕН ПРОЯВЛЯЕТ АР-ЛИАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ НА ОПРЕДЕЛЕННОМ ТИПЕ ДВУХЦЕПОЧЕЧНОЙ ДНК

Косова А. А., Ходырева С. Н., Лаврик О. И.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

Апуриновые/апиримидиновые (АР) сайты являются одними из наиболее часто встречающихся повреждений ДНК. Ранее при поиске белков, взаимодействующих с АР-сайтами, было обнаружено, что в присутствии боргидрида натрия белки клеточных экстрактов человека формируют ковалентный аддукт с молекулярной массой около 100 кДа, опосредованный образованием основания Шиффа, с частичным ДНК-дуплексом, содержащим АР-сайт и 5'- и 3'-выступающие одноцепочечные концы (DDE-АР-ДНК). Аддукт с такой электрофоретической подвижностью характерен только для DDE-АР-ДНК [1].

Белок, формирующий необычный 100-кДа-аддукт с DDE-АР-ДНК, был идентифицирован как Ku80-субъединица Ku-антигена методом пептидного картирования на основе данных MALDI-TOF масс-спектрометрии [2]. Ku-антиген, состоящий из двух субъединиц с молекулярными массами около 70 кДа (Ku70) и 83 кДа (Ku80), является эукариотическим ДНК-связывающим компонентом ДНК-зависимой протеинкиназы. Он играет ключевую роль в репарации двухцепочечных разрывов ДНК по пути негомологичного соединения концов. В данной работе было детально изучено взаимодействие Ku-антигена, выделенного из клеток HeLa, с АР-ДНК. Показано, что очищенный Ku-антиген (Ku80-субъединица) формирует 100-кДа-аддукт, характерный для АР-ДНК с определенной длиной выступающих концов, основанием напротив АР-сайта и положением АР-сайта. Установлено, что Ku-антиген способен расщеплять АР-сайт в DDE-АР-ДНК, в отличие от аналогичной АР-ДНК с тупыми концами. Ku-антиген расщепляет АР-сайты по механизму β -элиминирования и более активен по отношению к апуриновым сайтам, чем к апиримидиновым. АР-сайт в DDE-ДНК может подвергаться репарации путем последовательного действия Ku-антигена (расщепление АР-сайта), тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 (удаление 3'-дезоксирибозы), полинуклеотидкиназы-3'-фосфатазы (удаление 3'-фосфата), ДНК-полимеразы β (включение dNMP) и ДНК-лигазы (лигирование разрыва) [3].

Данный механизм является запасным, APE1-независимым путем репарации АР-сайтов. Он может реализовываться при фармакологическом ингибировании APE1, используемом для усиления действия химиотерапевтических алкилирующих агентов.

1. Iina E. S., Lavrik O. I., Khodyreva S. N. Ku antigen interacts with abasic sites, *Biochim. Biophys. Acta*, 2008, 1784: 1777–1785.

2. Kosova A. A., Khodyreva S. N., Lavrik O. I. Ku80 interaction with apurinic/apyrimidinic sites depends on the structure of DNA ends, *Biopolym. Cell*, 2014, 30: 42–46.

3. Kosova A. A., Khodyreva S. N., Lavrik O. I. Ku antigen displays the AP lyase activity on a certain type of duplex DNA, *Biochim. Biophys. Acta*, doi: 10.1016/j.bbapap.2016.04.011

*Работа поддержана РФФ (проект № 14-14-00501) и программой Президиума РАН
“Молекулярная и клеточная биология”*

УЗНАВАНИЕ ПОВРЕЖДЕННЫХ ОСНОВАНИЙ ДНК 8-ОКСОГУАНИН-ДНК-ГЛИКОЗИЛАЗАМИ РАЗНЫХ СТРУКТУРНЫХ СУПЕРСЕМЕЙСТВ

Ендуткин А. В.^{1,2}, Симмерлинг К.³, Жарков Д. О.^{1,2}

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

³*Университет штата Нью-Йорк, Стони-Брук, США*

Мутагенные окислительные повреждения ДНК, такие как, 8-оксогуанин, отличаются от своего неповрежденного предшественника всего по нескольким положениям, порой практически не изменяя структуру спирали ДНК. Чтобы эффективно узнавать такие повреждения, фермент-субстратные комплексы ферментов, узнающих поврежденные основания — ДНК-гликозилазы — претерпевают ряд конформационных изменений, определяющих высокую субстратную специфичность этих ферментов. 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы разных структурных суперсемейств способны находить 8-оксогуанин, вытеснять его из спирали ДНК и затем удалять его. До настоящего времени механизм, позволяющий эффективно дискриминировать поврежденное основание в условиях большого избытка неповрежденных, остается невыясненным.

Методом молекулярной динамики было установлено, что механизм, позволяющий 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазам отличать 8-оксогуанин от гуанина, представляет собой многоступенчатый процесс, затрагивающий различные структурные элементы белка. Были предсказаны аминокислотные замены в этих элементах, а также участки ДНК, важные для узнавания и катализа. Расчетные данные компьютерного моделирования были подтверждены биохимическими экспериментами. Обнаружено существенное сходство в механизме узнавания повреждения белками OGG1 и Fpg, несмотря на отсутствие между ними гомологии и совершенно разные третичные структуры. Такое сходство, возможно, свидетельствует об общем механизме узнавания одних и тех же поврежденных оснований ферментами репарации, принадлежащими к разным структурным суперсемействам.

*Работа поддержана грантами РФФ 14-24-00093 и РФФИ 14-04-01879-а
Ендуткин А. В. поддержан стипендией президента РФ*

РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ НОВЫХ МЕТОДОВ УЛУЧШЕНИЯ КАЧЕСТВА ДЕГРАДИРОВАННЫХ ДНК-МАТРИЦ ПЕРЕД ПЦР-АМПЛИФИКАЦИЕЙ

Дворникова А. П., Жарков Д. О.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

Несмотря на то, что ДНК в живой природе используется в качестве основного носителя генетической информации, химическая стабильность этой молекулы ограничена. ДНК может подвергаться окислению, гидролизу, алкилированию, дезаминированию, спонтанной утере оснований и т.п. Для того чтобы предотвратить накопление повреждений в ДНК, у живых организмов существуют ферментативные системы репарации ДНК. Под этим названием объединены как минимум шесть разных ферментативных систем, которые отвечают за удаление повреждений из ДНК и замену поврежденных участков на нормальную ДНК.

Репарация подавляющего большинства поврежденных оснований и ряда других повреждений осуществляется ферментативной системой эксцизионной репарации оснований ДНК. В отличие от многих других клеточных процессов эксцизионная репарация оснований протекает не с образованием специфичного мультиферментного комплекса, а с последовательным обменом ферментов на месте повреждения, что позволяет осуществить реконструкцию этого процесса *in vitro* из отдельных белков, которые могут происходить как из одного, так и из разных организмов.

Таким образом, при жизни организма системы репарации противостоят накоплению повреждений в ДНК, однако со смертью организма, эти процессы перестают работать и повреждения накапливаются в ДНК необратимо. Накопление повреждений в ДНК может представлять проблему в тех случаях, когда необходим анализ ее последовательности. Это особенно актуально в исследованиях «древней ДНК» из образцов возрастом от сотен до сотен тысяч лет и ДНК в криминалистической и судебно-медицинской практике.

В большинстве случаев постмортальные повреждения ДНК расположены напротив неповрежденного основания в комплементарной цепи и, следовательно, могут быть репарированы. Нами создан набор, включающий несколько основных ДНК-гликозилаз, АП-эндонуклеазу, ДНК-полимеразу и ДНК-лигазу, совместное действие которых приводит к репарации значительной части повреждений в анализируемой ДНК перед ее использованием в качестве матрицы для ПЦР. Совместно с коллегами из Института молекулярной и клеточной биологии СО РАН (Новосибирск, Россия) были проведены испытания набора ферментов репарации на образцах древней ДНК из лошадей, обнаруженных в пазырыкских захоронениях на плато Укок, датированных 4–3 вв. до н. э. С использованием набора ферментов выход митохондриальных ридов увеличился в 2 раза с понижением количества ошибок по сравнению с контролем в 3–5 раз.

Предполагается, что основное применение разработанная система, в которой ферменты репарации используются для улучшения качества деградированной ДНК-матрицы перед ПЦР, найдет при анализе «древней» ДНК, а также анализе ДНК в клинической и судебно-экспертной практиках.

*Работа поддержана базовым проектом фундаментальных исследований
СО РАН VI.57.1.4*

ВЛИЯНИЕ ПРИРОДЫ ОСНОВАНИЯ, РАСПОЛОЖЕННОГО НАПРОТИВ ПОВРЕЖДЕНИЯ, НА АКТИВНОСТЬ ПРО- И ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ АР-ЭНДОНУКЛЕАЗ

Мирошникова А. Д., Кузнецов Н. А., Федорова О. С.

*¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

АР-эндонуклеазы являются одними из ключевых ферментов эксцизионной репарации оснований и отвечают за поиск и инициирование процесса удаления АР-сайтов из ДНК. Основной физиологической функцией этих ферментов является гидролиз фосфодиэфирной связи в ДНК с 5'-стороны от АР-сайта. Несмотря на то, что АР-эндонуклеазы человека (APE1) и *E. coli* (эндонуклеаза IV, Nfo) принадлежат к разным структурным семействам, ферменты имеют близкую субстратную специфичность и обладают схожим набором каталитических активностей.

Анализ рентгеноструктурных данных, известных для APE1 и Nfo, показал, что для осуществления катализа в комплексе фермент-ДНК происходит изгибание дезоксирибозофосфатного остова ДНК, частичное плавление цепей дуплекса в области поврежденного нуклеотида и выворачивание АР-сайта из двойной спирали в активный центр ферментов. Кроме того, Nfo при взаимодействии с ДНК-субстратом выворачивает основание, находящееся в структуре дуплекса напротив АР-сайта, из внутренней области двойной спирали наружу. Таким образом, природа азотистого основания, расположенного в комплементарной цепи напротив АР-сайта, должна оказывать влияние на протекание ферментативного процесса, катализируемого APE1 и Nfo.

Цель данной работы состояла в изучении влияния основания, расположенного напротив АР-сайта, на стадии образования каталитически активного фермент-субстратного комплекса и на каталитическую реакцию гидролиза АР-сайта APE1 и Nfo. Для этого методом остановленного потока с флуориметрической детекцией исследовали конформационную динамику ферментов и ДНК-субстратов в процессе их взаимодействия. Было обнаружено, что кинетический механизм взаимодействия Nfo с ДНК-субстратом, как и в случае APE1, включает в себя четыре стадии, две из которых относятся к связыванию ДНК и образованию каталитического комплекса, одна – к каталитической реакции и одна – к диссоциации комплекса фермент-продукт. На основании полученных результатов установлено, что основание, расположенное напротив АР-сайта, влияет как на стадии образования каталитического комплекса, так и на скорость каталитической стадии.

Работа поддержана грантами РФФИ (16-04-00037, 14-04-00531, 15-04-00467 и 15-34-20121), МКБ 6.11 и РНФ (16-14-10038)

ВЛИЯНИЕ AP-ЭНДОНУКЛЕАЗЫ APE1 НА АКТИВНОСТЬ ДНК-ГЛИКОЗИЛАЗ MBD4 И TDG В ПРОЦЕССЕ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ОСНОВАНИЙ

Яковлев Д. А., Кладова О.А., Кузнецов Н. А., Федорова О. С.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

ДНК-гликозилазы MBD4 и TDG инициируют процесс деметилирования ДНК путем удаления модифицированного азотистого основания и образования в ДНК апуринового/апиримидинового сайта. Ферменты способны удалять из ДНК тимин, урацил и окисленные производные 5-метилцитозина. Известно, что MBD4 содержит два домена – метилцитозин-связывающий, обеспечивающий локализацию фермента в CpG-доменах ДНК, и ДНК-гликозилазный, отвечающий за каталитическую реакцию гидролиза N-гликозидной связи поврежденного основания.

Представленная работа направлена на установление кинетического механизма поиска и удаления модифицированных азотистых оснований ДНК-гликозилазами человека MBD4 и TDG и последующей передачи ДНК, содержащей апуриновый/апиримидиновый сайт, следующему участнику ферментативного процесса – AP-эндонуклеазе APE1. Для этого методом остановленного потока был проведен предстационарный кинетический анализ взаимодействия ДНК-гликозилаз MBD4 и TDG, AP-эндонуклеазы дикого типа APE1 и ее усеченной с N-конца формы $\Delta 61$ APE1 с модельными ДНК-субстратами, содержащими FRET-пару красителей FAM–BHQ.

На основании анализа полученных результатов предложен кинетический механизм взаимодействия ДНК-гликозилаз MBD4 и TDG и AP-эндонуклеазы APE1 в процессе передачи ДНК от одного фермента к другому. Показано, что N-концевой домен APE1 выполняет важную функциональную роль в процессе координации действия ферментов и участвует в активации ферментативной активности ДНК-гликозилаз.

Работа поддержана грантами РФФИ (16-04-00037, 14-04-00531, 15-04-00467 и 15-34-20121), МКБ 6.11 и РНФ (16-14-10038)

DNA DAMAGE PROCESSING BY HUMAN 8-OXOGUANINE-DNA GLYCOSYLASE MUTANTS: STOPPED-FLOW FRET STUDY

Lukina M. V.^{1,2}, Kuznetsov N. A.^{1,2}, Zharkov D. O.^{1,2}, Fedorova O. S.^{1,2}

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

Toxic action of different endogenous and exogenous agents leads to damages in the genomic DNA. 8-Oxoguanine is one of the most common and highly mutagenic oxidative damage in DNA. Normally in human cells it is promptly removed by 8-oxoguanine-DNA-glycosylase hOGG1, the key DNA-repair enzyme. An association between accumulation of oxidized guanine and an increased risk of harmful processes in an organism has been already found. At the same time, the detailed mechanism of damaged base recognition and removal is still full of questions. To clarify the role of the active site amino acids in the damage base coordination and to reveal the elementary steps in the overall enzymatic process, we have investigated hOGG1 mutant forms with substituted amino acid residues in the enzyme base-binding pocket. Replacing the functional groups of the enzyme active site allowed us to affect the rates of individual steps of the enzymatic reaction.

The amino acid Ser-326 is located apart from the active site, closer to the protein globule surface. A polymorphic variant hOGG1 S326C has become an object of close attention, because the increased frequency of this SNP was detected among people with some types of cancer and other serious diseases. Therefore, hOGG1 mutant forms S326C and S326E with substituted Ser-326 were also selected for the study

To gain further insight into the mechanism of hOGG1 catalysis, a detailed pre-steady state kinetic study of this enzymatic process was carried out using the stopped-flow approach. The changes in the DNA structure after the mixing with enzymes were followed by recording of the FRET signal using the Cy3/Cy5 labels in DNA substrates during the time range from milliseconds to hundred seconds. DNA duplexes containing non-damaged DNA, 8-oxoG, AP site or its unreactive synthetic analogue were used as DNA substrates. The kinetic parameters of DNA binding and damage processing were obtained for mutant forms as well as for WT hOGG1. The analyses of fluorescence traces provided information about the DNA dynamics during damage recognition and removal. The kinetic study for mutant forms revealed that all introduced substitutions reduce the efficiency or even ablate hOGG1 activity; however they play pivotal roles at certain elementary stages identified during the study. Taken together, our results give the opportunity to restore the role of each amino acid and main "damaged base – amino acid" contacts; this provides an important link in the understanding the mechanism of the DNA repair process catalyzed by hOGG1.

The work was supported by grants from the RFBR (16-34-00771); Program "Molecular and Cellular Biology" (6.11); the RSF (14-14-00063, 16-04-10038)

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ДНК-ПОЛИМЕРАЗ С ДНК-БЕЛКОВЫМИ СШИВКАМИ И БЕЛКАМИ, ПРОЧНО СВЯЗАННЫМИ С ДНК

Юдкина А. В.^{1,2}, Жарков Д. О.^{1,2}

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

ДНК живых организмов постоянно подвергается воздействию различных экзогенных и эндогенных генотоксических агентов, в результате чего могут возникать повреждения. Одно из распространенных повреждений ДНК - ДНК-белковые сшивки (ДБС) – возникает под действием ряда факторов: химических (альдегиды, ионы тяжелых металлов), физических (ионизирующее и УФ-излучение), а также в результате ковалентного присоединения ферментов (метилтрансферазы, топоизомеразы) при ошибках в их работе. Однако взаимодействие клеточных механизмов с этим видом повреждений остается малоизученным из-за отсутствия хороших экспериментальных моделей. Как чрезвычайно объемные аддукты, сшивки мешают многим процессам метаболизма ДНК, в том числе репликации, транскрипции и релаксации. Кроме ковалентных ДБС, ферменты матричного синтеза зачастую сталкиваются с препятствиями в виде тесно нековалентно связанных с ДНК белков — нуклеосом, других компонентов хроматина и т.д. В случае нуклеосом механизмы взаимодействия ДНК- и РНК-полимераз с тесно связанными с ДНК белками достаточно хорошо изучены, но общие принципы взаимодействия остаются до сих пор неясными.

Целью работы было изучение взаимодействия ДНК-полимераз с ДБС и белками, прочно связанными с ДНК. Для создания модельных ДБС олигонуклеотидный дуплекс, содержащий 8-оксогуанин, обрабатывали формамидопиримидин-ДНК гликозилазой (Fpg) *E. coli* в присутствии NaBH₄. Исследовали процесс прохождения места сшивки ДНК-полимеразами, принадлежащими к разным семействам, обладающих разными свойствами: фрагментом Кленова ДНК-полимеразы I *E. coli*, ДНК-полимеразами β , λ и κ человека, термофильными ДНК-полимеразами Taq и Pfu, ДНК-полимеразами бактериофагов T4 и RB69 и ДНК-полимеразой Dpo4 из *Sulfolobus sulfataricus*. В качестве модели прочно связанного нековалентного комплекса с ДНК использовали ДНК-гликозилазу человека OGG1, имеющую высокое сродство к продукту реакции удаления 8-оксогуанина из ДНК. Было показано, что ДНК-полимеразы не способны обойти белковый аддукт и останавливают синтез на некотором расстоянии от него. Была обнаружена значительная гетерогенность в месте расположения точек прекращения синтеза и способности ДНК-полимераз разных семейств доходить до повреждения. Было установлено, что фрагмент Кленова ДНК-полимеразы I *E. coli* вытесняет белок OGG1 из нековалентного комплекса с ДНК, что может свидетельствовать о способности этой ДНК-полимеразы разрушать и другие прочные ДНК-белковые комплексы.

Работа выполнена в рамках проектов РФФИ № 14-04-01879-а и МКБ № 6.12

**РОЛЬ АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ G42, R154, Y203, R204, K249 И D268 В УЗНАВАНИИ ПОВРЕЖДЕННОЙ ДНК
8-ОКСОГУАНИН-ДНК-ГЛИКОЗИЛАЗОЙ ЧЕЛОВЕКА hOGG1**

Тюгашев Т. Е., Кузнецов Н. А., Воробьев Ю. Н., Федорова О. С.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

8-Оксогуанин-ДНК-гликозилаза человека hOGG1 отвечает за удаление одного из наиболее распространенных повреждений ДНК, возникающего под воздействием активных форм кислорода, – 8-оксогуанина (8-охоGua). Согласно данным о структуре свободного фермента и его комплексов с ДНК, в фермент-субстратном комплексе рибозофосфатный остов ДНК изогнут примерно на 70° в месте поврежденного нуклеотида. Поврежденный нуклеотид вывернут из спирали ДНК в активный центр фермента, а в образовавшуюся в ДНК полость встроены аминокислотные остатки Tyr-203, Asn-149, Arg-154 и Arg-204. Arg-154 и Arg-204 образуют прямые контакты с основанием Cyt, расположенным напротив

8-охоGua в комплементарной цепи, а Lys-249 и Asp-268 участвуют в протекании каталитических стадий. Gly-42 является единственным аминокислотным остатком активного центра, который образует водородную связь только с поврежденным основанием охоGua, но не с Gua. Несмотря на структурные данные, в настоящее время остается открытым вопрос о роли некоторых аминокислотных остатков hOGG1 в процессе поиска, узнавания и удаления 8-охоG.

С помощью молекулярно-динамического моделирования исследовано влияние отдельных аминокислотных остатков на структуру каталитического комплекса, образованного ДНК-гликозилазой и ДНК, содержащей пару 8-охоG/С либо G/С. Для этого были использованы структуры комплекса hOGG1 с ДНК (1EBM) и свободного фермента (1KO9), содержащие замены G42S, R154A, Y203A, R204A, K249Q или D268A. На основании анализа результатов моделирования были установлены отличия во взаимодействии мутантных форм фермента с поврежденной и неповрежденной ДНК и определен вклад аминокислотных остатков в относительную стабильность комплексов hOGG1 с ДНК. Было показано, что на образование каталитического комплекса влияют как аминокислотные остатки G42, K249, D268, расположенные в активном центре фермента и взаимодействующие непосредственно с поврежденным основанием 8-охоGua, так и аминокислотные остатки R154, Y203, R204, участвующие в связывании дезоксирибозофосфатного остова ДНК.

Работа поддержана грантами РФФИ (16-04-00037, 14-04-00531, 15-04-00467 и 15-34-20121), МКБ 6.11 и РНФ (16-14-10038)

PLASMA MIRNAS AS BIOMARKERS OF LUNG CANCER

Zaporozhchenko I. A.^{1,2}, Morozkin E. S.^{1,2}, Skvortsova T. E.¹, Rykova E. Y.¹,
Ponomaryova A. A.³, Cherdyntseva N. V.³, Vlassov V. V.¹, Laktionov P. P.^{1,2}

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk Research Institute of Circulation Pathology of E.N. Meshalkin, Novosibirsk, Russia*

³*Tomsk Cancer Research Institute RAMS, Tomsk, Russia*

Lung cancer (LC) is currently the world's leading cause of cancer-related mortality with an overall mortality to incidence ratio of 0,87. Due to the low efficiency of cancer screening LC is often detected at an advanced disease, therefore new strategies for preclinical screening and monitoring of post therapy relapses are required. Recently, specific subsets of miRNAs that reflect tumor properties and disease progression have been found circulating in blood of cancer patients and suggested as potential biomarkers for lung cancer.

We investigated a signature of seven miRNAs (miR-21, miR-19b, miR-126, miR-25, miR-205, miR-183, miR-125b) previously shown to be involved in tumor development, invasion and vascularization in blood plasma of LC patients and healthy individuals using qRT-PCR.

Two miRNAs were significantly upregulated (miR-19b, miR-21) and two were downregulated (miR-25, miR-183) in lung cancer patients ($p < 0.05$). Four miRNAs (miR-19b, miR-126, miR-25, miR-205) were found to be differentially regulated in squamous cell carcinoma (SCC) patients when compared to healthy controls ($p < 0.05$). In adenocarcinoma (AD) patients only two miRNAs (miR-19b, miR-183) were differently expressed ($p < 0.05$). ROC curve analysis demonstrated high predictive value of miR-19b for total population and SCC patients, while miR-183 was more effective in discriminating patients with AD. Stepwise binary logistic regression has identified the combination of miR-19b and miR-183 to be a strong predictor of LC in total population AUC: 0,990. This combination can be used to detect LC with 94,7% sensitivity and 95,2% specificity.

NEW OLIGONUCLEOTIDE DERIVATIVES WITH INTERNUCLEOTIDE N-TOSYL PHOSPHORAMIDATE GROUPS: SYNTHESIS AND SOME PROPERTIES

Prokhorova D. V.¹, Apukhtina V. S.^{1,2}, Chelobanov B. P.^{1,2}, Stetsenko D. A.^{1,2}

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

Antisense oligonucleotides have been studied for more than 30 years as potential therapeutics for the treatment of cancer, genetic diseases and viral or bacterial infections. However, rapid in vivo degradation of native oligonucleotides have prompted extensive search for chemical modifications that increase their stability in biological media and improve RNA binding. Oligonucleotide analogues modified at the internucleotide phosphate group such as phosphorothioates have been developed as the first generation of nuclease-resistant antisense agents. Those compounds still show promise today. Recently, we have described a new class of nucleic acid mimics that substitute uncharged tetraalkyl phosphoryl guanidine group for the natural phosphate group [1]. Phosphoryl guanidine oligonucleotides (PGO) have shown promise as potential therapeutics due to their tight RNA binding and excellent stability to nucleases [2]. However, due to their fully uncharged backbone, PGO solubility in water is lower than for negatively charged oligonucleotide analogues.

An interesting type of phosphate-modified oligonucleotides are the N-sulfonyl phosphoramidates that can be efficiently synthesized via Staudinger reaction on solid phase between internucleoside 2-cyanoethyl phosphite and corresponding sulfonyl azides [3, 4]. The N-sulfonyl phosphoramidate group like the phosphodiester group carries a negative charge at pH 7. However, the prospects of those analogues as antisense agents have remained unexplored until now. We report herein on the synthesis of new oligodeoxyribonucleotide derivatives that incorporate internucleotide N-tosyl phosphoramidate group. The compounds are prepared via Staudinger reaction with tosyl azide. Their affinity to complementary DNA or RNA is very similar to that for native oligodeoxyribonucleotides. The N-tosyl phosphoramidate group enhances resistance of the modified oligonucleotides to nuclease digestion in the presence of serum. These data suggest that N-tosyl phosphoramidate derivatives could be suitable as antisense agents.

1. Stetsenko D., Kupryushkin M., Pyshnyi D., patent application WO2016/028187A1, priority from 22.08.2014.

2. Kupryushkin M. S., Pyshnyi D. V., Stetsenko D. A., *Acta Naturae*, 2014, 6, 116-118.

3. Heindl D. et al. *Nucleic Acids Symp. Ser.*, 2008, 52, 405-406.

4. Heindl D., Kessler D., Canadian patent 2627208, priority from 12.09.2006.

This work was funded by RFBR grants №№ 15-03-06331, 15-29-01334, 15-54-10049 and 16-03-01055. Oligonucleotide synthesis was supported by RSF grant № 15-15-00121

МОДЕЛЬНЫЕ ДНК, СОДЕРЖАЩИЕ ОБЪЕМНЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ, И ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С БЕЛКАМИ СИСТЕМЫ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ НУКЛЕОТИДОВ

Лукьянчикова Н. В., Петрусева И. О., Лаврик О. И.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

В ДНК живых организмов постоянно появляются повреждения, являющиеся результатом воздействия факторов экзогенного и эндогенного характера. Системы репарации ДНК препятствуют образованию повреждений и предотвращают потерю генетической информации в клетках. Основным механизмом удаления объемных повреждений, дестабилизирующих регулярную структуру ДНК, является эксцизионная репарация нуклеотидов (ЭРН).

В ходе работы были синтезированы линейные ДНК (137 п.н.), содержащие эффективно распознаваемые и процессируемые системой ЭРН повреждения (фотоактивный dC^{FAB} , ненуклеозидный флуоресцеин (nFlu) и антрацен (nAnt)) в обеих цепях.

Было показано, что ДНК, содержащие близкорасположенные повреждения в обеих цепях, являются сложнорепазируемыми ($dC^{FAB}/nFlu_{+4}$, $dC^{FAB}/nFlu_{-3}$) или нерепарируемыми структурами ($nFlu/nFlu_{+4}$, $nFlu/nFlu_{-3}$, $nAnt/nFlu_{+4}$, $nAnt/nFlu_{-3}$). Модельная ДНК, содержащая объемные повреждения в противоположных позициях ($dC^{FAB}/nFlu_0$), также представляет собой нерепарируемую структуру.

Также было показано, что при увеличении расстояния между повреждениями в модельных субстратах происходит либо полное ($dC^{FAB}/nFlu_{-21}$, $dC^{FAB}/nFlu_{-10}$, $dC^{FAB}/nFlu_{+8}$), либо неполное восстановление субстратных свойств ДНК ($nAnt/nFlu_{-21}$, $nAnt/nFlu_{-10}$, $nAnt/nFlu_{+8}$).

Было продемонстрировано, что аффинность dC^{FAB} -содержащей ДНК к белку ХРС-HR23В понижена по сравнению с дуплексами, содержащими повреждения в обеих цепях ($dC^{FAB}/nFlu_{+4}$, $dC^{FAB}/nFlu_{-3}$), и повышена по сравнению с немодифицированной ДНК.

Полученные данные о взаимодействии синтетических аналогов поврежденной ДНК с белками комплекса ЭРН позволяют лучше понять механизм распознавания повреждения и то, как скорость удаления повреждения связана с его структурой. Такое понимание важно как в фундаментальном, так и в прикладном аспекте: действие многих химиотерапевтических препаратов основано на введении в ДНК объемных повреждений.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 14-24-00038

INHIBITION OF INVASIVE PROPERTIES OF MURINE MELANOMA BY BOVINE PANCREATIC DNASE I IN VITRO AND IN VIVO

Alexeeva L.A., Patutina O.A., Sen'kova A.V., Zenkova M.A., Mironova N.L.

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

For a long time DNases were intensively investigated as anticancer agents due to their ability to destroy genetic material of tumor cells. DNase I was used for the treatment of patients with various forms of metastatic cancer, and a number of positive results have been achieved. In current researches data indicating the contribution of extracellular DNA in malignant transformation and metastasis were accumulated, confirming the perspective for study these enzymes as antitumor and antimetastatic drugs.

In the present study we investigated the ability of bovine pancreatic DNase I to reduce the invasive potential of melanoma B16 in vitro and in vivo. It has been found that DNase I negatively affected the viability of melanoma cells ($IC_{50} = 10.1 \pm 1.2 \times 10^3$ u/ml). At the doses $0.5 - 1.5 \times 10^3$ that is of $<1/5$ IC_{50} DNase I has been shown to reduce the migration activity of melanoma cells in vitro, which is manifested in a decrease in the migration length of cell front and in a reduction of the cell migration rate. In mice with B16 metastatic melanoma we have reliably shown that intramuscular administration of DNase I in the dose range of 0.12 – 1.2 mg/kg resulted in 2-3 fold reduction in of the number of surface lung metastases and caused non-specific antigenic immune stimulation and activation of T-cell-mediated response.

This work was supported by RAS program "molecular and Cellular Biology", grant SS-7623.2016.4 and RFBR 14-04-01007

ПОСТЕРЫ

БЕЛКОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ МОЛОКА ЧЕЛОВЕКА

Соболева С. Е.¹, Добролюбова Ю. О.², Невинский Г. А.^{1,2}

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

Большинство биологических процессов осуществляется не индивидуальными белками, а различными многокомпонентными системами и белковыми комплексами. Биологические активности отдельных белков могут отличаться от активностей подобных комплексов, поэтому идентификация и характеристика белковых комплексов является важным шагом в исследовании функциональных свойств различных биологических жидкостей человека, содержащих подобные комплексы.

В настоящей работе исследованы белковые комплексы молока человека. Для выделения различных комплексов проводили серию последовательных гель-фильтраций молока, очищенного от липидной фракции. После разделения белков молочной плазмы был проведен анализ влияния полученных фракций на рост раковых клеток аденокарциномы человека линии MCF-7. Показано, что две белковые фракции обладают высоким уровнем цитотоксичности – на 50% и 90% ингибируют жизнеспособность клеток. Белки фракции с меньшей цитотоксичностью (50%) соответствуют высокомолекулярному стабильному белковому комплексу лактоферрина (СБК ЛФ), который обнаружен в молоке человека ранее. В данной работе показано, что комплекс подавляет рост раковых клеток с большей эффективностью, чем его основной белок – лактоферрин. Кроме того, впервые показано, что СБК ЛФ обладает протеолитической и фосфатазной активностями, проведено сравнение с подобными активностями отдельных белковых составляющих комплекса. Показано, что ферментативные активности СБК ЛФ значительно превышают суммарные активности индивидуальных белков.

Фракция с большей цитотоксичностью (90%) гель-фильтрацией была разделена на четыре подфракции, и только одна из них была цитотоксичной. Показано, что данная подфракция является белковым комплексом, поскольку отдельные белковые компоненты, полученные после разделения его ионообменной хроматографией, практически не ингибируют жизнеспособность раковых клеток. С использованием SDS-PAGE анализа и иммуноблотинга показано, что комплекс содержит белки с молекулярными массами от 30 до 80 кДа (лактоферрин и его фрагменты) и белок с молекулярной массой 14 кДа (вероятно, альфа-лактальбумин).

Таким образом, показано, что в молоке человека содержатся высокомолекулярные белковые комплексы, обладающие высоким уровнем цитотоксичности. Один из них – СБК ЛФ обладает биологическими свойствами, нехарактерными для составляющих его белков. Детальное исследование биологических свойств подобных комплексов может внести вклад в развитие работ по созданию новых препаратов для лечения различных заболеваний, в том числе онкологических.

Работа поддержана Программой ФНИ государственных академий наук № VI.59.1.2, грантом РФФИ № 16-04-00609

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЕЗИКУЛ ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА

Буркова Е. Е.^{1,2}, Невинский Г. А.^{1,2}

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

В последние годы исследование везикул плаценты привлекает к себе большой интерес в связи с их важной ролью при беременности. Показано, что основной и уникальный тип клеток в плаценте – синцитиотрофобласт, высвобождает различные внеклеточные везикулы в кровь матери, такие как экзосомы (40–100 нм) и микровезикулы (100 нм–1 мкм). Функции этих везикул разнообразны: межклеточная коммуникация, участие в секреции белков, супрессия иммунного ответа и многое другое. Таким образом, эти компоненты плаценты имеют огромное значение для успешного протекания беременности. Однако, несмотря на многолетние исследования, состав и свойства всех везикул плаценты исследованы недостаточно полно.

Целью настоящей работы было выделение везикул из плаценты человека, их очистка от совыделяющихся белков и белковых комплексов, а также анализ их морфологии и белкового состава. Везикулы из плаценты выделяли дифференциальным центрифугированием предварительно ультрафильтрованного экстракта гомогената плаценты человека. Для дополнительной очистки везикул от совыделяющихся белков и белковых комплексов проводили гель-фильтрацию ресуспендированного осадка, полученного ультрацентрифугированием при 100 000 g, на колонке с сорбентом сефароза 4В.

Трансмиссионной электронной микроскопией было показано присутствие везикул размером 30–230 нм и микрочастиц в одной из трех фракций, полученных гель-фильтрацией. Иммунохимическим окрашиванием при помощи антител к маркерным белкам CD63 и CD81 показано наличие экзосом в этой фракции. С использованием одномерного, двумерного электрофореза и MALDI-TOF масс-спектрометрии был проанализирован белковый состав данной фракции. Среди белков были обнаружены как специфичные для плаценты, такие как плацентарная щелочная фосфатаза, так и другие белки, встречающиеся во многих тканях и жидкостях организма.

Работа поддержана Программой ФНИ государственных академий наук на 2013–2020 годы № VI 59.1.2, грантом РФФИ № 16-04-00609

САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКИЙ ГИДРОЛИЗ ГИСТОНА H1 АНТИТЕЛАМИ КРОВИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ

Баранова С. В.¹, Дмитренко П. С.², Невинский Г. А.¹

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины, СО РАН, Новосибирск, Россия

²Тихоокеанский институт биоорганической химии, ДО РАН, Владивосток, Россия

Гистоны и их посттрансляционные модификации играют ключевую роль в ремоделировании хроматина и транскрипции генов. Кроме внутриядерных функций, гистоны, попадая во внутриклеточное пространство, вызывают системные воспалительные и токсические процессы.

Каталитически активные антитела (абзимы) являются отличительной особенностью некоторых аутоиммунных и вирусных заболеваний. Согласно литературным данным, в крови больных ВИЧ-инфекцией может повышаться концентрация гистонов.

Показано, что электрофоретически и иммунологически гомогенные IgG, выделенные из крови ВИЧ-инфицированных пациентов, эффективно гидролизуют от одного до пяти человеческих гистонов (H1, H2A, H2B, H3 и H4). На основании общепринятых критериев доказано, что гистон-гидролизующая активность антител является их собственным свойством. Относительная эффективность гидролиза гистонов значительно варьировалась для IgG различных пациентов. Установлено, что 40% антител, выделенных из крови здоровых доноров, также гидролизуют гистоны, но со средней эффективностью – приблизительно в 16 раз ниже, чем у ВИЧ-инфицированных пациентов. Препараты поликлональных IgG из крови ВИЧ-инфицированных больных содержат небольшую фракцию антител, которые, в отличие от классических протеаз, с высокой эффективностью гидролизуют только гистоны, но не другие белки.

Методом масс-спектрометрии MALDI-TOF впервые идентифицированы сайты расщепления гистона H1 (193 аминокислотных остатка, АК) анти-гистон антителами крови ВИЧ-инфицированных больных. Показано, что антитела гидролизуют белок в начале одной из известных антигенных детерминант центрального домена (106–112 АК). В этой последовательности локализованы один главный и четыре умеренных сайта расщепления. Два главных и несколько слабых сайтов расщепления обнаружены в центральной (8 сайтов, 138–158 АК) и концевой (5 сайтов, 166–176 АК) части антигенной детерминанты С-концевого домена. Показано, что в N-концевой части гистона H1 (1–105 АК), нет ни одного сайта расщепления белка. Эти данные подтверждают высокую устойчивость к гидролизу N-концевой части гистона H1 анти-гистон антителами, в отличие от гидролиза ее каноническими протеазами. Таким образом, установлено, что сайты расщепления гистона H1 трипсином и антителами крови ВИЧ-инфицированных больных существенно различаются.

Работа поддержана грантами РФФИ №№ 15-04-03245, 16-34-00079, 16-04-00604

ИССЛЕДОВАНИЕ КОНФОРМАЦИЙ ДНК-ДУПЛЕКСА, МЕЧЕННОГО ТРИАРИЛМЕТИЛЬНЫМИ РАДИКАЛАМИ

Кадцын Е. Д.^{1,2}, Аникеенко А. В.^{1,2}, Медведев Н. Н.^{1,2}

¹Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

²Институт химической кинетики и горения им. В.В.Воеводского СО РАН,
Новосибирск, Россия

Спиновые и люминесцентные метки широко применяются для исследования динамики и структуры биомолекул. При этом всегда возникает вопрос о влиянии присоединенных меток на исходную структуру молекулы. Этот вопрос трудно решить экспериментально, однако используя компьютерное моделирование, можно напрямую сравнить поведение меченой и немеченой молекул. Отдельный интерес представляют ДНК-дуплексы, в которых возможны структурные изменения, вызванные «раскрытием» комплементарных пар терминальных оснований (fraying). Возникает вопрос, насколько критическим для дуплекса является присоединение меток.

Мы провели полноатомное молекулярно-динамическое моделирование водного раствора ДНК-дуплекса с присоединенными к его концам триарилметильными (ТАМ) спиновыми метками. Такая система была недавно получена и исследована методом импульсной ЭПР спектроскопии, было измерено расстояние между спиновыми метками [1]. Мы исследовали конформации, возникающие в этой системе на протяжении достаточно долгого моделирования (2 мкс).

Можно выделить два класса специфических конформаций, различающихся состоянием дуплекса. В первом случае он сохраняет свою структуру (нормальные конформации); при этом метки, в среднем, «прикрывают» концы дуплекса. Во втором случае происходит раскрытие концов дуплекса (дефектные конформации), и метки получают дополнительные возможности для реализации различных конформаций, в частности, могут ложиться в бороздку дуплекса. Время жизни таких конформаций в нашем случае составляло десятки и сотни наносекунд.

Для сравнения изучено поведение немеченого дуплекса. Показано, что для него также реализуются как нормальные, так и дефектные конформации. Отмечено, что наличие меток не приводит к существенному изменению поведения дуплекса. Показано, что распределение расстояния между центрами меток, построенное для нормальных конформаций в наших моделях, хорошо согласуется с экспериментальным распределением для данной системы, фиксированной на подложке в водном растворе [1].

1. Shevelev G.Y., Krumkacheva O. A., Lomzov A. A., Kuzhelev A. A., Rogozhnikova O. Y., Trukhin D. V., Troitskaya T. I., Tormyshev V. M., Fedin M. V., Pyshnyi D. V., Bagryanskaya E. G., *J. Am. Chem. Soc.* 136(28) (2014) 9874-9877.

СИНТЕЗ 5-(ПЕРИЛЕН-3-ИЛЭТИНИЛ)УРАЦИЛ УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ И ЕЁ АМИДОВ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОТИВ ОБОЛОЧЕЧНЫХ ВИРУСОВ

Стрешнев Ф. П.¹, Чистов А. А.¹, Апарин И. О.¹, Сапожникова К. А.¹, Орлов А. А.^{2,3}, Коршун В. А.¹, Козловская Л. И.², Осолодкин Д. И.^{2,3}, Бриджеш Ратхи⁴, Нидхи Джайн⁵, Брылёв В. А.¹

¹Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия

²Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова, Москва, Россия

³Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

⁴Химический факультет колледжа Хансрадж, Северный кампус университета Дели, Дели, Индия

⁵Химический факультет индийского технологического института, Дели, Индия

5-(Перилен-3-илэтинил)-2'-дезокс-уридин (dUY11) и его арабиносодержащий аналог (aUY11) являются высокоактивными ингибиторами репликации ряда оболочечных вирусов, например H1N1, Эболы, Зика, гепатита С [1]. Для оценки необходимости наличия углеводного остатка в молекуле противовирусного соединения была синтезирована 5-(перилен-3-илэтинил)урацил уксусная кислота, а также ее производные (амиды).

Разработан метод синтеза карбоновой кислоты. Первой и второй стадиями являются алкилирование 5-иод урацила трет-бутиловым эфиром бромуксусной кислоты и пивалоилоксиметил хлоридом (PomCl), соответственно. Последующее удаление трет-бутильной защиты, реакция Соногаширы с 3-этинилпериленом и удаление Pom-защиты поташом в метаноле позволяют получить целевую 5-(перилен-3-илэтинил)урацил-уксусную кислоту. Реакцией активированного эфира кислоты с рядом аминов с последующим удалением Pom-защиты был синтезирован набор гидрофобных и гидрофильных производных, модулирующих амфипатический характер всей молекулы. Была изучена активность полученных соединений в отношении вируса клещевого энцефалита (TBEV). Большинство исследованных соединений показало высокую ингибирующую способность по отношению к вирусу TBEV в культурах клеток.

Таким образом, жесткая ароматическая часть молекулы критична для высокой биологической активности, а углеводная часть в лидерном соединении dUY11 может быть с успехом заменена на карбоксиметильную группу или ее производные.

1. St.Vincent M.R. et al. Rigid amphipathic fusion inhibitors, small molecule antiviral compounds against enveloped viruses. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 107 (40), 17339–17344 (2010).

Работа выполнена при поддержке грантов РНФ № 15-15-00053 и РФФИ № 15-53-45103

МОДИФИКАЦИЯ ПО 3'-ГИДРОКСИЛЬНОЙ ГРУППЕ ПРОТИВОВИРУСНОГО НУКЛЕОЗИДА dUY11 ДЛЯ МОДУЛИРОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Проскурин Г. В.¹, Брылёв В. А.¹, Орлов А. А.^{2,3}, Чистов А. А.¹, Коршун В. А.¹,
Козловская Л. И.², Осолодкин Д. И.^{2,3}, Аралов А. В.¹

¹Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова,
Москва, Россия

²Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова,
Москва, Россия

³Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

5-(Перилен-3-илэтинил)-2'-дезоксид-уридин (dUY11) является высокоактивным ингибитором репликации ряда оболочечных вирусов, причём фармакофором, по-видимому, служит жёсткая ароматическая часть молекулы – 5-(перилен-3-илэтинил)урацильный фрагмент, а углеводный остаток обуславливает небольшие вариации активности и цитотоксичности [1]. Поэтому представляло интерес получить библиотеки аналогов dUY11 с модификациями по углеводному остатку.

Мы разработали метод получения 3'-О-азидометильного производного dUY11 через 5'-О-силил защищённое 3'-О-метилтиометильное соединение. Из этого азида с помощью медь(I)-катализируемого циклоприсоединения к терминальным алкинам (реакция Хьюсена–Мельдаля–Шарплесса или «клик»-реакция) получен ряд 3'-О-(4-R-1,2,3-триазол-1-илметильных) производных, где R – ω-гидроксиалкильные остатки. Модификация также проводилась с помощью некатализируемой (промотируемой напряжением цикла) реакции циклоприсоединения азидов к циклооктинам. Для полученной библиотеки триазольных производных исследуются их цитотоксичность и способность ингибировать вирус клещевого энцефалита в культурах клеток.

Сопоставление биологических свойств новых веществ со структурой даст возможность оценить перспективность предложенного метода модификации и уточнить механизм противовирусного действия этого класса соединений.

1. St. Vincent M. R. et al. Rigid amphipathic fusion inhibitors, small molecule antiviral compounds against enveloped viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107 (40), 17339–17344 (2010).

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 15-15-00053

**TASSE: НОВЫЙ ПОДХОД К РЕАЛИЗАЦИИ
МОЛЕКУЛЯРНО-КОНТИНУАЛЬНОЙ МОДЕЛИ РАСТВОРИТЕЛЯ
ПРИ КОМПЬЮТЕРНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ МЕТОДОМ
МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ**

Попов А. В.¹, Воробьёв Ю. Н.^{1,2}, Жарков Д. О.^{1,2}

¹*Новосибирский институт химической биологии и фундаментальной медицины,
Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

Метод молекулярной динамики - один из важнейших способов изучения атомной структуры белков, нуклеиновых кислот и их комплексов. Он также лежит в основе современных методов рационального дизайна лекарственных препаратов. Как классические молекулярно-динамические исследования, так и основанный на них метод докинга непрерывно развиваются в направлении повышения достоверности.

Одной из проблем, требующей аккуратного решения, является способ моделирования влияния растворителя на стабильность пространственной структуры белков и нуклеиновых кислот. В настоящее время существуют как модели явного растворителя, так и неявного (континуального) в виде приближенной математической модели. Хотя явно моделируемый растворитель позволяет изучать межмолекулярные контакты биополимеров с ним, такая модель характеризуется низкой мобильностью исследуемой структуры из-за возрастающего вязкого трения. Это повышает требования к длине молекулярно-динамических траекторий для наблюдения интересующих конформационных переходов. Кроме того, из-за резкого увеличения числа атомов системы производительность значительно снижается. Поэтому интерес представляет разработка гибридной модели, в которой часть молекул растворителя, прилегающая к биополимеру и формирующая с ним контакты, моделируется явно, а удаленный растворитель представляется бесконечным континуумом. При этом вычислительная эффективность модели определяется минимизацией числа явно моделируемых молекул растворителя.

Разработана программа TASSE (Tightly Associated Solvent Shell Extractor), которая решает упомянутую проблему, получая информацию о значимости тех или иных молекул растворителя из предварительного относительно короткого моделирования в явном растворителе. Программа анализирует водородные связи и электростатические взаимодействия, возникающие вдоль траектории, и находит мостики, соединяющие атомы биополимера через молекулы растворителя. Затем последние ранжируются по значимости и создаётся новая структура с минимальным количеством явных молекул растворителя, расположенных в статистически наиболее значимых узлах. Существует возможность тонкой настройки параметров анализа, включая задание числа сохраняемых молекул растворителя. Полученная структура в дальнейшем может использоваться для моделирования в рамках континуальной модели. Программа поддерживает траектории популярного молекулярно-динамического пакета AMBER, программного комплекса BISON, а также любых других пакетов, поддерживающих экспорт траекторий в формат PDB.

Работа поддержана грантами РФФИ № 15-04-00387, программы РАН МКБ (6.11), РНФ № 16-14-10038 и базового проекта фундаментальных исследований СО РАН VI.57.1.4

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБИОТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА ИНА-5812

Алфёрова В. А.¹, Топольян А. П.², Куляева В. В.¹, Рогожин Е. А.^{1,2},
Прохоренко И. А.^{1,2}, Брылёв В. А.², Шенкарёв З. О.², Кудан П. В.³, Шувалов М. В.^{1,4},
Слюндина М. С.^{1,5}, Королёв А. М.¹, Катруха Г. С.¹, Гладких Е. Г.¹, Лапчинская О. А.¹,
Тюрин А. П.^{1,2}

¹Институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва, Россия

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

³ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва, Россия

⁴Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

⁵Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева, Москва, Россия

Из культуры *Streptomyces roseoflavus* ИНА-Ас-5812 с помощью комбинации методов твердофазной экстракции, переосаждения, гель-проникающей хроматографии и обращенно-фазовой хроматографии выделен концентрат пептидной природы с антибактериальной активностью [1]. С помощью высокоточных масс-спектрометрических методов MALDI-TOF и ESI-MSⁿ установлено, что основными компонентами антибиотического комплекса являются несколько близких структурных аналогов, предположительно (глико)пептидной природы. С помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии на обращенной фазе концентрат был фракционирован, каждая фракция также была подвергнута масс-спектрометрическому исследованию. Фракция, содержащая индивидуальный компонент ИНА-5812-Е с массой 1845.788 Да, была охарактеризована спектрами поглощения и флуоресценции, аминокислотным анализом и дериватизацией трис(2,4,6-триметоксифенил)метильным катионом.

В результате комплексного исследования установлено, что компонент ИНА-5812-Е содержит флуорофор, близкий по спектральным характеристикам кинуренину, содержащемуся в антибиотике даптомицине [2]. Зафиксировано также присутствие в молекуле остатка орнитина и остатка углевода-пентозы.

Поиск антибиотиков с набором структурных признаков, аналогичных определенному для компонента ИНА-5812-Е, не дал аналогий, что, принимая во внимание широкий антибактериальный спектр действия, делает исключительно перспективным исследование отдельных компонентов антибиотического комплекса ИНА-5812 и установление их структуры. В настоящее время ведется разработка методов дальнейшей характеристики компонентов и их выделения в индивидуальном виде в количествах, достаточных для исследования с помощью метода ЯМР.

1. Лапчинская О. А. и др. Антибиотик ИНА 5812, штамм-продуцент *Streptomyces roseoflavus* ИНА-Ас-5812 и способ получения антибиотика. Патент РФ 2572341 (2016).

2. Lakey J. H., Ptak M. Fluorescence indicates a calcium-dependent interaction between the lipopeptide antibiotic LY146032 and phospholipid membranes. *Biochemistry*, 27 (13), 4639–4645 (1988).

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА МОДЕЛЬНЫЕ ЛИПИДНЫЕ МЕМБРАНЫ МЕТОДОМ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

Шелепова Е.А.^{1,2}, Ким А. В.^{1,2}, Медведев Н. Н.^{1,2}

¹*Институт химической кинетики и горения СО РАН, Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

Глицирризиновая (ГК) кислота – это тритерпеновый сапонин, содержащийся в корне солодки. Экстракт солодки с давних пор используется в народной медицине для лечения и профилактики простудных заболеваний. Имеется большое количество экспериментальных данных, указывающих, что кроме собственного фармакологического действия, ГК способна усиливать биодоступность других лекарственных препаратов при их совместном применении. Высказываются предположения, что сапонины могут образовывать поры в липидных мембранах, а наличие холестерина дополнительно способствует этому. Однако механизм этого явления остается неизвестным. Компьютерное моделирование может внести ясность в понимание обсуждаемых процессов на молекулярном уровне. В данной работе мы используем полноатомную молекулярную динамику, реализованную в пакете Gromacs.

Для изучения влияния ГК на мембрану нами исследованы модели как «чистых» бислоев, то есть состоящих из липидов одного вида, так и содержащих холестерин. Рассмотрены три разных фосфолипиды, отличающихся насыщенностью липидных хвостов: дипальмитоилфосфатидилхолин (DOPC), 1-пальмитоил-2-олеилфосфатидил-холин (POPC) и диолеилфосфатидилхолин (DPPC). Была также получена и исследована модель бислоя DOPC с холестерином. Изучено поведение ГК в присутствии указанных модельных мембран. Обнаружено, что в ненасыщенных липидах (DOPC и POPC) молекула ГК ведёт себя похожим образом: оказавшись у поверхности мембраны, она некоторое время (в среднем ~50 нс) перемещается по поверхности и затем проникает в бислой, где локализуется в ближайшем полуслое (ниже голов липидов), не пересекая середины бислоя. В случае насыщенных липидов (DPPC), которые располагаются более упорядоченно в бислое, возможен переход молекулы ГК через середину мембраны во второй полуслой, что наблюдалось примерно в 20% независимых МД-прогонок. В мембране с холестерином, который, известно, способствует упорядочению липидных хвостов, также наблюдалось прохождение ГК через середину мембраны.

Таким образом, упорядоченность липидных хвостов способствует прохождению молекулы ГК во второй полуслой. Отмечено, что в мембране с холестерином молекула ГК предпочитает ориентироваться перпендикулярно плоскости мембраны, тогда как в ненасыщенных мембранах она располагается параллельно. Важно также то, что молекула ГК в мембране не образует дополнительных пор, что видно из рассмотрения молекулярно-динамических конфигураций.

Обнаруженные особенности поведения молекул ГК вблизи и внутри модельных мембран являются важным шагом на пути к пониманию механизмов усиления биодоступности лекарственных препаратов в присутствии ГК.

ОЦЕНКА ПЕРСПЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДИК ОБРАБОТКИ ИК-СПЕКТРОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ ПРИ НАЛИЧИИ МАЛОГО КОЛИЧЕСТВА ДАННЫХ

Носенко Т. Н.¹, Плотникова Л. В.¹, Поляничко А. М.², Гарифуллин А. Д.³, Волошин С. В.³, Успенская М. В.¹

¹*Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий механики и оптики, Международный научно-исследовательский институт «Биоинженерия», г. Санкт-Петербург, Россия*

²*Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия*

³*Российский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови, г. Санкт-Петербург, Россия*

Актуальной задачей в наше время является диагностика раковых заболеваний, особенно таких редко встречающихся, как множественная миелома (ММ). Малое количество пациентов с данным заболеванием приводит к недостаточной статистической выборке для надежной диагностики болезни. В этом случае имеет большое значение применение нескольких независимых диагностических методов, дающих приемлемую достоверность. С этой целью нами разработаны три независимые друг от друга методики, определяющие наличие характерного для ММ патологического протеина.

В ходе настоящей работы были исследованы ИК-спектры сыворотки крови доноров и больных ММ. Обработка результатов ИК-спектрометрии сыворотки крови проводилась по трем методикам.

1. Деконволюция пика поглощения ИК-излучения, соотнесенного с полосой Амид I. Результаты, полученные при этом, позволяют сделать заключение о различии во вторичной структуре белка и провести устойчивое различие ИК-спектров доноров и пациентов, больных ММ.

2. Анализ сыворотки крови на наличие заболевания ММ с помощью вычитания ИК-спектра человеческого сывороточного альбумина (ЧСА) из ИК-спектра сыворотки крови. Обработка ИК-спектров проводилась с применением статистических и хеометрических способов обработки данных. Каждый спектр представлен одной точкой в трехмерном пространстве, и после обработки получено объемное распределение точек для доноров и пациентов.

3. Анализ ИК-спектров сыворотки крови с помощью построения фазовых траекторий. На фазовой плоскости строилась траектория для двух снятых ИК-спектров. Для их построения брались оптические плотности двух спектров и строилась зависимость оптической плотности одного спектра от другого. Были построены фазовые траектории для всех возможных пар доноров, пациентов, а также для пар донор Ni и пациент Pj. Проводилась оценка полученных траекторий по степени разброса данных от аппроксимирующей прямой. Результаты обработки свидетельствуют о хорошем различии между ИК-спектрами доноров и больных ММ.

В ходе работы было определено, что три рассмотренные методики, применяясь вместе, повышают достоверность при оценке образцов, полученных от небольшого количества пациентов. Методика построения фазовых траекторий является наиболее оптимальной в условиях малого количества статистических данных.

НОВЫЕ ПРОТИВОВИРУСНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ С ТРИАЗОЛЬНЫМ ЛИНКЕРОМ

Проскурин Г. В.¹, Орлов А. А.^{2,3}, Чистов А. А.¹, Кутяков С. В.¹, Коршун В. А.¹, Осолодкин Д. И.^{2,3}, Аралов А. В.¹

¹Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия

²Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова, Москва, Россия

³Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Многие возбудители инфекционных заболеваний (герпесвирусы, вирусы гриппа, гепатита С, клещевого энцефалита, коронавирусы и вирусы геморрагических лихорадок) представляют собой оболочечные вирусы. Оболочка вирусной частицы состоит из мембраны, происходящей из клеток хозяина, и заякоренных в ней вирусных белков.

Ранее было показано, что урацильные нуклеозидные производные, соединённые в 5-м положении гетероциклического кольца конформационно жёстким этинильным линкером с фрагментом перилена, подавляют активность многих оболочечных вирусов, предположительно ингибируя процесс слияния вируса и клеточной мембраны и, следовательно, проникновение генетического материала вириона внутрь клетки [1]. Адаптация к подобному механизму действия практически невозможна, поскольку у вирусов отсутствуют ферменты, осуществляющие репарацию мембраны.

Остаток 1,2,3-триазола широко применяется в качестве изостера амидной связи при синтезе аналогов пептидов и белков [2]. Мы заменили в жёстких противовирусных нуклеозидах этинильный линкер между периленовым и урацильным остатками на триазольный линкер и исследовали биологическую активность полученных соединений.

Были разработаны схемы получения 5-азидопроизводных уридина и 2'-дезоксиридина. К этим соединениям затем присоединяли 3- и 2-этинилперилены по реакции медь-катализируемого [2+3]- циклоприсоединения. В качестве контролей веществ были получены соответствующие фенилтриазольные производные нуклеозидов и 1-(2-гидроксиэтил)-4-(перилен-2(3)-ил)-1,2,3-триазолы. Целевые соединения, в отличие от контрольных, проявили высокую активность в отношении вируса клещевого энцефалита в культуре клеток.

Таким образом, обнаружена новая группа противовирусных соединений и показано, что для высокой активности необходимо присутствие как периленового, так и урацильного фрагмента с жёстким линкером между ними.

1. St. Vincent M. R. et al. Rigid amphipathic fusion inhibitors, small molecule antiviral compounds against enveloped viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107 (40), 17339–17344 (2010).

2. Hou J. et al. The impact of click chemistry in medicinal chemistry. *Expert Opin. Drug Discov.*, 7 (6), 489–501 (2012).

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 15-15-00053

СИНТЕЗ ПОЛИАНИОННЫХ ПЕПТИДО-НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ НА ОСНОВЕ L-GLU ПО МОДИФИЦИРОВАННОМУ ВОС-ПРОТОКОЛУ

Кириллова Ю. Г.^{1,2}, Танкевич М. В.², Деженков А. В.¹, Варижук А. М.²,
Смирнов И. П.², Позмогова Г. Е.²

¹Московский технологический университет (Институт тонких химических технологий), Москва, Россия

²Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины
Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия

Пептидо-нуклеиновые кислоты (ПНК) [1], несущие отрицательный заряд в боковой цепи, являются интересными и перспективными объектами исследования. Они способны образовывать с полинуклеотидами комплексы с различными структурами.

Ранее мы показали, что при отщеплении с носителя и деблокировании олигомеров, по данным MALDI-TOF-масс-спектрометрии, происходят структурные изменения и перегруппировки ($\Delta M+1$, $\Delta M-18$, $\Delta M-44$) в молекулах α -карбоксиэтил-ПНК [2, 3]. С использованием модельного амида тиминового α -мономера на основе L-Glu показано, что при постсинтетической обработке продукта твердофазной сборки α -ПНК преимущественное накопление побочных веществ происходит в результате N-ацильного переноса ацетамидного производного нуклеинового основания с одновременной циклизацией, декарбоксилирования бокового радикала и гидролиза C-концевого амида.

В результате модельного исследования были найдены условия для щадящего отщепления и деблокирования олигомера H- α -S-карбоксиэтил-C4T6-NH₂. Также представлены результаты исследования взаимодействия олигомера H- α -S-карбоксиэтил-C4T6-NH₂ с комплементарными олигодезоксирибонуклеотидами.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости разработки протоколов отщепления с носителя, сохраняющих целостность олигомеров. Особенно это важно для эффективного получения наиболее перспективных для использования в качестве лекарств 20-30-мерных полианионных α - и γ -карбоксиэтил-ПНК. К параметрам оптимизации можно отнести: концентрацию трифторметансульфокислоты, температуру добавления отщепляющей смеси, продолжительность реакции.

1. Nielsen P. E., Egholm M., Berg R. H., Buchardt O. Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide // *Science*. 1991. V. 254. P. 1497-1500.

2. Кириллова Ю. Г., Танкевич М. В., Прохоров Д. И., Швец В. И. Особенности твердофазного синтеза отрицательно заряженных хиральных полиамидных миметиков нуклеиновых кислот // *ЖОрХ*. 2013. Т. 49. № 12. С. 1787-1795.

3. Ширяева (Танкевич) М. В., Кириллова Ю. Г., Никольская Е. Д., Прохоров Д. И., Смирнов И. П., Позмогова Г. Е. Оптимизация твердофазного синтеза полиамидных миметиков нуклеиновых кислот с применением MALDI-TOF-масс-спектрометрии // *Вестник МИТХТ*. 2013. Т. 8. № 1. С. 87-95.

Работа поддержана грантом Российского Научного Фонда № 14-25-00013 и грантом Министерства образования и науки Российской Федерации № 4.128.2014/К

НОВЫЕ АНАЛОГИ G-СЛАМП МОДИФИКАЦИИ С 2-АМИНОЭТОКСИ ИЛИ 2-ГУАНИДИНОЭТОКСИ ЛИНКЕРОМ В МЕТА-ПОЛОЖЕНИИ ФЕНОКСАЗИНОВОГО КОЛЬЦА

Зацепин Т. С.^{1,2,3}, Шпаковский Г. В.⁴, Аралов А. В.⁴

¹Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

²ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

³Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

⁴Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия

В настоящее время модифицированные олигонуклеотиды широко используются в качестве диагностических, а также новых терапевтических средств. Введение в олигонуклеотиды модифицированных или неприродных остатков позволяет регулировать их сродство к комплементарным нуклеиновым кислотам и обеспечивает повышенную стабильность *in vitro* и *in vivo*. Ранее было показано, что введение в олигонуклеотиды производных с 2-аминоэтоксигруппой (G-clamp) или 2-гуанидиноэтоксигруппой (гуанидино-G-clamp) группой в 9 положении 1,3-диаза-2-оксофеноксазинового кольца приводит к значительному увеличению стабильности дуплексов с комплементарными ДНК и РНК. Кроме того, олигонуклеотиды дезоксирибо- и рибо-ряда, содержащие G-clamp модификацию, использовались для получения дуплексов с параллельными цепями, а также для подавления Tat-зависимой транскрипции, соответственно.

В качестве других аналогов цитозина были предложены фенилпирролоцитозиновые производные (PhpC), содержащие аминоэтоксигруппу или аминопропоксигруппу-линкер в орто- и мета-положении фенольного кольца. В данной работе авторы предположили, что линкер в орто-положении может приводить к возникновению нежелательных сил отталкивания между атомом кислорода линкера и Об атомом гуанинового остатка в комплементарной цепи. Действительно, сравнение температур плавления показало, что перенос линкеров в модификациях на основе PhpC из орто- в мета-положение оказывает положительное влияние на термодинамическую стабильность содержащих их дуплексов.

Для исследования влияния на термодинамическую стабильность дуплексов переноса 2-аминоэтоксигруппы линкера G-clamp модификации из орто- в мета-положение, была разработана схема синтеза соответствующего G^{8AE}-clamp амидита, и показано, что он эффективно встраивается в растущую цепь ДНК. Затем было проведено постсинтетическое гуанидирование G^{8AE}-clamp-модифицированных олигонуклеотидов. В результате экспериментов было установлено, что G^{8AE}-clamp и гуанидино-G^{8AE}-clamp модификации обладают значительным стабилизирующим дуплексы эффектом, а также, при введении в 3'-конец олигонуклеотидов, придают устойчивость к действию фосфодиэстеразы змеиного яда. Поскольку ранее было установлено, что «антисмысловые» олигонуклеотиды, содержащие G-clamp модификацию, обладают низкой активностью *in vivo* по «нокдауну» генов, мы использовали G^{8AE}-clamp модификацию для получения праймеров для кПЦР детекции дцРНК вируса Кемерово и показали 5-кратное увеличение ее чувствительности.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-33-00156

DESIGN AND EVALUATION DUAL-LABELED MOLECULAR PROBES BASED ON HUMAN SERUM ALBUMIN

Antonova N. M.^{1,2}, Chubarov A. S.^{1,2}, Akulov A. E.³, Zakharova O. D.¹, Koptug I. V.⁴, Razumov I. A.³, Zavjalov E. L.³, Moshkin M. P.², Silnikov V. N.¹, Godovikova T. S.^{1,2}

¹*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

³*Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia*

⁴*International Tomography Center, SB RAS, Novosibirsk, Russia*

It is often desirable to use the same compound for different clinical applications, e.g., combined pre- and intraoperative tumor detection. Based on their detection sensitivity, the combination of magnetic resonance (preoperative diagnostics and surgical planning) and fluorescence (intraoperative surgical image guidance) is probably the most valuable in multimodal molecular imaging. In the present study, human serum albumin has been functionalized with a combination of maleimide of a fluorescent dye and a fluorinated thiolactone derivative, yielding a dual-labeled molecular probe for optical imaging (Fluorescence Emission Computer Tomography, FLECT) and ¹⁹F magnetic resonance imaging (¹⁹F MRI). The incubation of cells with this conjugate did not reveal any significant reduction in cell viability with respect to the unmodified albumin.

The surface of a molecular probe needs to be functionalized with poly(ethylene glycol) (PEG) to endow polymeric nanocarriers with stealthy features during blood circulation. This is attributed to the protein-resistant capacity of hydrophilic coronas and the bypassing the recognition and clearance by reticuloendothelial system. The receptor-mediated targeting is useful also for finding and destroying circulating or metastatic cells that express the receptors of interest. Biotin receptors overexpressed on the surface of different cancer cells could internalize sufficiently the biotin targeted drug delivery system into these cells. In the present study, via adamantine linkers, PEG (for stabilization purposes) and biotin (for active targeting and uptake by cancer cells) have been coupled to the dual-labeled molecular probe.

The changes in pharmacokinetics and biodistribution of biotin-PEG grafted conjugates were evaluated by intravenous injection administration to mice and compared with those of the ungrafted conjugates. Organ uptake was increased, in particular by liver and kidneys.

Initial experiments in a glioma animal model showed that the tumor uptake of the fluorinated albumin for 24 h after injection was higher than in the surrounding healthy brain tissues. Consequently, the dual-labeled albumins have been demonstrated to act as a promising agent for ¹⁹F MRI and fluorescence emission computer tomography.

This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (RFMEFI61314X0015).

A UNIVERSAL APPROACH TO 2'-FUNCTIONALIZATION OF RNA

Krasheninina O.A., Novopashina D.S., Venyaminova A.

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

The development of new approaches to chemical synthesis of modified functional RNAs (siRNAs, miRNAs, antisense RNAs, ribozymes, aptamers, antireplicative RNAs, et al.) is an actual task of bioorganic chemistry, molecular biology and biomedicine.

The goal of this work was to develop an efficient versatile chemical strategy of the synthesis of modified RNA containing nucleotides with functional groups at the 2'-position of ribose. The introduction of functional groups at the 2'-position of ribose moiety does not disturb the complementation interactions and has a minimal impact on the structure of the NA-duplex, while the 3'- and 5'-end of the oligonucleotide remain free to introduction of additional modifications.

The present approach is an extension of developed by us method of 2'-phosphorylation of oligonucleotides on a solid phase [1,2]. This method is based on the use of combination of two types of the 2'-protecting groups, which can be removed in different conditions and must be compatible with standard protecting groups used in the solid phase phosphoramidite synthesis of oligoribonucleotides. Compared to other already proposed methods of 2'-modification of RNA, this synthetic strategy involves commercially available reagents and 1) does not require pre-synthesis of all four (U, A, C and G) specially functionalized nucleotide phosphoramidites, 2) allows to modify any nucleotide of desired sequence during the solid phase phosphoramidite synthesis, 3) allows modification of several nucleotides in the oligoribonucleotide chain and 4) is based on a combination of modern synthetic methods of bioorganic chemistry, characterized by high yields (solid-phase synthesis, click chemistry, etc.).

To demonstrate the ability of this rather simple and cost-effective universal approach to the 2'-functionalization of oligonucleotides, we synthesized a series of 2'-modified oligoribonucleotides, bearing the fluorescent groups and groups that enhance the ability of NA to penetrate into cells (lipophilic, positively charged groups, et al.).

1. Novopashina, D., Totskaya, O., Meschaninova, M., Stetsenko, D., Veniaminova, A.G. *Nucleosides Nucleotides Nucl. Acids*, 2007, 26, 821-825.

2. Krasheninina, O. A., Novopashina, D. S., Lomzov, A. A., Venyaminova, A. G. *ChemBioChem*, 2014, 15, 1939–1946.

This work was supported by RFBR grant №16-33-00987 mol_a and by Scholarship of the President of the Russian Federation (Grant 1778.2015.4)

ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКИЕ И ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КОМПЛЕКСА ИБУПРОФЕНА С ПОЛИСАХАРИДОМ ЛИСТВЕННИЦЫ АРАБИНОГАЛАКТАНОМ

Борисов С. А.¹, Хвостов М. В.¹, Толстикова Т. Г.¹, Душкин А. В.²

¹Новосибирский институт органической химии СО РАН, Новосибирск, Россия

²Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН, Новосибирск, Россия

Ибупрофен (ИБ) – один из наиболее широко используемых нестероидных противовоспалительных средств. Однако, у ИБ есть ряд существенных недостатков, которые особенно ярко проявляются после его перорального применения. Во-первых, это плохая растворимость ИБ в воде, что приводит к повышению дозы, необходимой для достижения терапевтического эффекта. Во-вторых, это раздражающее влияние на слизистую желудочно-кишечного тракта, приводящее к эрозивным повреждениям и язвам при длительном применении ИБ. В данной работе нами предложен метод повышения эффективности и безопасности ИБ путем образования комплекса по типу «гость-хозяин» с полисахаридом лиственницы сибирской (*Larix Sibirica*) арабиногалактаном (АГ). Известно, что он значительно повышает растворимость некоторых лекарственных веществ в комплексе.

В экспериментах использовали белых беспородных мышей и крыс линии Wistar. Все агенты вводили внутривенно. Комплекс ИБ:АГ в массовом соотношении 1:10 вводили в дозах 200 и 400 мг/кг, чистый ИБ в эквивалентных дозах 20 и 40 мг/кг. Фармакокинетические параметры веществ измеряли в результате анализа образцов сыворотки крови отобранных через 15, 30, 45, 60, 90 и 120 минут после введения агентов. Анальгетическую активность исследовали с помощью двух стандартных фармакологических тестов: «горячая пластина» и «уксусные корчи». Противовоспалительное действие оценивали на модели гистаминового отека.

В результате фармакокинетических исследований было обнаружено, что в группах животных, которым вводили комплекс ИБ:АГ в дозах 200 и 400 мг/кг, содержание ИБ в сыворотке крови было значительно выше, чем в группах чистого ИБ в эквивалентных дозах, что свидетельствует о существенном повышении биодоступности ИБ в комплексе. В тестах на температурную и химическую ноцицепцию было показано, что комплекс ИБ:АГ в обеих дозах проявил достоверную анальгетическую активность, в то время как аналогичный эффект для чистого ИБ наблюдали только в дозе 40 мг/кг. Аналогичные данные были получены на модели гистаминового отека, где достоверное противовоспалительное действие было обнаружено у комплекса ИБ:АГ в дозах 200 и 400 мг/кг и у чистого ИБ в дозе 40 мг/кг, тогда как в дозе 20 мг/кг ИБ такого эффекта не проявлял. В целом, полученные фармакокинетические и фармакодинамические данные согласуются и свидетельствуют о том, что комплексообразование с АГ способствовало повышению биодоступности ИБ, что в свою очередь способствовало уменьшению его минимальной эффективной анальгетической и противовоспалительной дозы с 40 до 20 мг/кг. Снижение минимальной эффективной дозы должно существенно повысить безопасность ИБ при пероральном применении.

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ УЗНАВАНИЯ AP-САЙТОВ В ДНК AP-ЭНДОНУКЛЕАЗОЙ ZARE ИЗ *DANIO RERIO*

Вабищевич К. А., Ломзов А. А., Коваль В. В.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия
Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
Новосибирск, Россия*

Участие AP-эндонуклеаз в процессах эксцизионной репарации оснований является биологически значимым путем репарации окислительных повреждений ДНК. Белок zAre из *Danio rerio* (Zebrafish) расщепляет содержащие AP-сайты ДНК-дуплексы.

С целью выяснить, какие аминокислотные остатки в активном центре фермента zAre участвуют в узнавании AP-сайта в ДНК, мы провели молекулярное моделирование комплексов фермента с ДНК-дуплексом, содержащим AP-сайт.

К настоящему моменту ни 3D-структура фермента, ни структурные особенности узнавания zAre повреждений в ДНК не известны. Первая часть работы, предшествующая MD-симуляции, состояла из трёх последовательных стадий: получение координат аминокислотных остатков в zAre; создание и оптимизация структуры ДНК-дуплекса, связанного с ферментом (в центральной части дуплекс содержит остаток тетрагидрофурана); определение положения и количества ионов Mg^{2+} , связанных в активном центре фермента.

3D-структуру zAre получали с помощью protein homology/analogy recognition engine Phyre. Существенным, возможно критичным для формирования правильного каталитического комплекса является наличие и расположение ионов Mg^{2+} . Показано, что ионы Mg^{2+} принимают непосредственное участие в координации в активном центре фермента вывернутого из двойной спирали ДНК AP-сайта. Кроме того, они участвуют в формировании переходного состояния вследствие перераспределения электронной плотности на фосфате рядом с расщепляемой связью. Результаты моделирования показывают, что в связывании Mg^{2+} принимают участие кислороды фосфатной группы AP-сайта ДНК.

Молекулярное моделирование комплекса zAre с ДНК по механизму молекулярной динамики проводили с помощью программного пакета AMBER 14. Длительность молекулярно-динамической траектории составила 100 нс.

В работе предложена 3D- структура zAre: определены положения каталитически важных ионов Mg^{2+} . Полученные данные позволяют нам рассматривать комплекс zAre-ДНК как сеть непрерывных взаимодействий, которые отражают локальную подвижность и способность комплекса к глобальной структурной пластичности.

Работа поддержана РФФИ (14-04-00806) и Министерством образования и науки РФ (Конкурс совместных лабораторий НГУ – ННЦ СО РАН)

Работа выполнена в Лаборатории структурной биоинформатики и молекулярного моделирования НГУ с использованием вычислительных мощностей Сибирского суперкомпьютерного центра СО РАН www2.sccc.ru

ИЗМЕРЕНИЕ СИЛЫ РАЗРЫВА МОЛЕКУЛЫ ДНК МЕТОДОМ АТОМНО-СИЛОВОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Курусь Н. Н.¹, Дульцев Ф. Н.^{1,3}, Шевелев Г. Ю.^{2,3}, Ломзов А. А.^{2,3}, Пышный Д. В.²

¹Институт физики полупроводников СО РАН, Новосибирск, Россия

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

³Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

Силы внутримолекулярных взаимодействий определяют механические свойства двухцепочечной молекулы ДНК, а также играют важную роль в процессах упаковки внутри ядра, взаимодействия с белками, хранения и передачи генетической информации. Для протекания данных процессов важно, чтобы трехмерная структура молекулы в достаточной степени стабилизировалась водородными связями. Одним из способов исследования механической стабильности молекулы ДНК является измерение силы разрыва водородных связей между цепями, формирующими дуплексную структуру. Кроме того, на основе данных о величине силы разрыва можно получить информацию об энергетическом профиле распада двойной спирали, а также определить кинетические и термодинамические параметры реакции комплексообразования, такие как константа диссоциации, скорость диссоциации, время жизни комплекса.

Измерение сил разрыва связей с помощью атомно-силовой спектроскопии широко применяется для изучения процессов межмолекулярных взаимодействий комплексов нуклеиновых кислот [1] и белков. Основным преимуществом данного подхода перед другими исследовательскими методиками является отсутствие электромагнитного излучения, неблагоприятного для молекул биополимеров. В основе данного метода лежит измерение силы взаимодействия между комплементарными цепями ДНК, одна из которых ковалентно иммобилизована на зонде АСМ, а другая - на поверхности подложки. Сближение зонда с подложкой приводит к гибридизации комплементарных олигонуклеотидов и образованию ДНК-комплекса, а последующий отвод зонда - к его денатурации. При этом на графике зависимости силы от расстояния между зондом и подложкой наблюдаются характерные пики, величина которых соответствует силе разрыва связей в формируемом ДНК-комплексе.

В данной работе методом атомно-силовой спектроскопии измеряли величину силы разрыва водородных связей в модельном ДНК-комплексе, формируемом комплементарными олигонуклеотидами длиной 20 пар оснований, один из которых иммобилизовали на изготовленном из кремния зонде АСМ, а другой - на подложке из кремния, покрытой тонким слоем золота. На основе экспериментальных силовых кривых получено частотное распределение сил разрыва связи. Показано наличие двух силовых максимумов, что может быть связано с реализацией множественных разрывов ДНК-комплексов. Изображения рельефа подложки, полученные методом АСМ в сканирующем режиме, свидетельствуют о зернистой структуре слоя золота, что может способствовать возникновению множественных связываний между олигонуклеотидами.

1. Noy A. et al. *Stretching and breaking duplex DNA by chemical force microscopy* // *Chemistry & biology*. – 1997. – Т. 4. – №. 7. – С. 519-527.

РЕАГЕНТ ДЛЯ КОНТРОЛИРУЕМОГО СИНТЕЗА КОВАЛЕНТНЫХ КОНЬЮГАТОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ И ДНК

Апарин И. О.¹, Берлина Я. Ю.¹, Скоблов Ю. С.¹, Скоблов М. Ю.³, Власик Т. Н.⁴,
Коршун В. А.^{1,2}, Формановский А. А.¹ и Прохоренко И. А.^{1,2}

¹*Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва, Россия*

²*Институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, Москва, Россия*

³*Медико-генетический научный центр, Москва, Россия*

⁴*Российский по кардиологический научно-производственный комплекс, Москва, Россия*

Мы синтезировали новый реагент, позволяющий контролировать степень модификации антитела и эффективность последующей реакции конъюгации с фрагментом ДНК. Ковалентные конъюгаты антител с фрагментами ДНК имеют большое преимущество перед другими вариантами метода иммунно-ПЦР, использующими аффинные взаимодействия типа стрептавидин-биотин, поскольку сокращают число стадий проведения анализа. Это позволяет существенно увеличить чувствительность иммуноанализа благодаря преимуществам ПЦР в режиме реального времени [1].

Наш реагент представляет собой активированный эфир флуоресцентного цианинового красителя сульфо-Су5, который одновременно является линкером, несущим алифатическую азидогруппу. Большая экстинкция этого красителя позволяет осуществить контролируемую модификацию белка, чтобы преимущественно получался конъюгат состава 1:1. Моноклональное антитело, обработанное красителем сульфо-Су5 с азидогруппой и содержащее от 1 до 6 остатков красителя на молекулу белка, сохранило свою аффинность в стандартном иммуноферментном анализе. Полученное таким образом модифицированное антитело обрабатывали избытком олигонуклеотида, содержащим на одном конце производное дибензоциклооктина, а на другом - ещё один краситель сульфо-Су3. Циклоалкиновый олигонуклеотид прореагировал с окрашенным азидированным иммуноглобулином, давая целевой конъюгат с высоким выходом.

Данный подход наглядно демонстрирует эффективность реакции циклоприсоединения азидов к циклоалкинам для сшивки ДНК с антителом и другими белками.

1. Chang L., Li J., Wang L. *Immuno-PCR: An ultrasensitive immunoassay for biomolecular detection. Anal.Chimica Acta*, 910, 12–24 (2016)

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 15-15-00053.

СИНТЕЗ НОВЫХ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ ИЗ 2-ЗАМЕЩЕННЫХ АНИЛИНОВ И ПРИРОДНЫХ КАРКАСНЫХ КЕТОНОВ

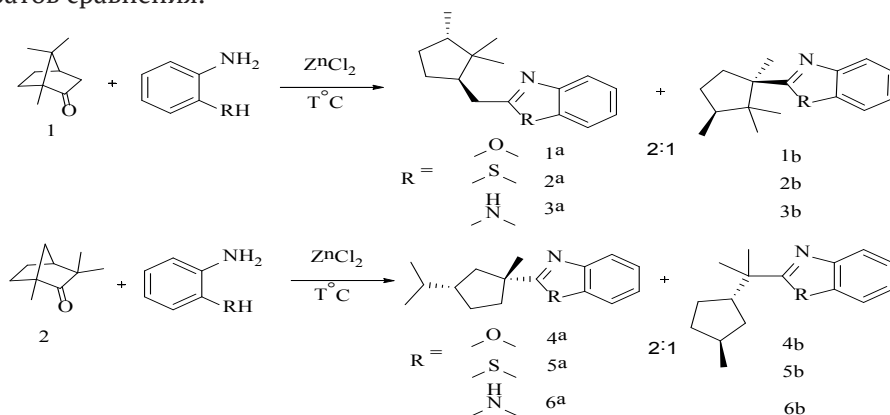
Чернышов В.В.^{1,2}, Яровая О.И.^{1,2}, Салахутдинов Н.Ф.¹

¹Лаборатория физиологически активных веществ НИОХ СО РАН, Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный национально исследовательский университет, Новосибирск, Россия

Бензимидазольный фрагмент можно считать важным структурным блоком для конструирования лекарственных препаратов. В современных справочниках по лекарственным препаратам можно найти порядка 90 производных бензимидазола, применяемых в настоящее время в качестве лекарственных средств. В связи с этим, разработка методов синтеза разнообразных производных бензимидазола получает всё возрастающее внимание со стороны химиков-синтетиков и биологов.

Нами было показано, что взаимодействие о-замещенных аминов с каркасными кетонами приводит к разрыву природного остова с образованием соответствующих гетероциклических производных. Изучена противовирусная активность преобладающих структурных изомеров. Наибольшую активность при низкой токсичности проявили соединения 3а и 6а, терапевтический индекс которых значительно превышает таковой у препаратов сравнения.



Соединение	CTD ₅₀ мкг/мл	EC ₅₀ мкг/мл	SI
1a	26,4	>10	<3
2a	22,1	0,6	37
3a	>500	7	71
4a	38,6	>30	<1
5a	43,6	>30	<1
6a	>500	10	50

CTD₅₀ - 50% цитотоксическая концентрация, **EC₅₀ - 50% эффективная концентрация, ***SI- индекс селективности представляющий собой отношение CTD₅₀ к EC₅₀

Работа проведена при поддержке гранта РФФИ № 15-03-00193А

ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФОСФОРИЛГУАНИДИНОВЫХ ОЛИГО-2'-О-МЕТИЛРИБОНУКЛЕОТИДОВ В ОТНОШЕНИИ *PROTEUS MIRABILIS*

Апухтина В. С.^{1,2}, Хлусевич Я. А.¹, Матвеев А. Л.¹, Челобанов Б. П.^{1,2},
Стеценко Д. А.^{1,2}, Тикунова Н. В.¹

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

В настоящее время особое значение приобретает разработка новых терапевтических агентов, способных успешно преодолевать возникающую у патогенных микроорганизмов устойчивость к традиционным антибиотикам. В качестве средств лекарственного воздействия на антибиотикоустойчивые штаммы бактерий рассматриваются антисмысловые олигонуклеотиды, обладающие уникальной способностью селективно ингибировать экспрессию жизненно важных бактериальных генов за счет связывания с мРНК [1, 2]. Выраженную антибактериальную активность в отношении устойчивого к метициллину штамма *S. aureus* (MRSA) показали производные синтетических аналогов олигонуклеотидов с незаряженным остовом, такие как пептидные нуклеиновые кислоты (РНА) [3] и фосфординидные морфолиновые олигонуклеотиды (РМО) [4]. В то же время, в литературе можно встретить немного примеров успешного использования антисмысловых олигонуклеотидов в отношении антибиотикоустойчивых грамотрицательных бактерий [5].

Микроорганизм *P. mirabilis* является распространенной грамотрицательной бактерией, вызывающей поражение мочеполовых путей, нозокомиальные (больничные) инфекции, а также заражение ран, в частности, при синдроме диабетической стопы. Лечение заражения затруднено в силу характерной для патогенных штаммов *P. mirabilis* устойчивости к широкому спектру антибиотиков. Для поиска потенциальных терапевтических препаратов для лечения инфекций, вызываемых *P. mirabilis*, мы предложили изучить новый класс аналогов РНК – фосфординидные олиго-2'-О-метилрибонуклеотиды, имеющие, как и РМО, электрически нейтральный сахарофосфатный остов [6, 7]. Последовательности антисмысловых олигонуклеотидов были подобраны к различным участкам мРНК генов *groD* и *aad*, мутации в которых летальны для бактерий. В настоящем докладе обсуждается антибактериальное действие на культуру *P. mirabilis* антисмысловых олиго-2'-О-метилрибонуклеотидов, нацеленных на ген *groD*.

1. Tattevin P., Lorleac'h A., Revest M., Bull. Acad. Natle. Méd., 2014, 198, 439–457.
2. Penchovsky R., Traykovska M., Expert Opin. Drug Discov., 2015, 10, 631–650.
3. Liang S., He Y., Xia Y. et al., Int. J. Infect. Dis., 2015, 30, 1–6.
4. Wesolowski D., Alonso D., Altman S., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2013, 110, 8686–8689.
5. Bai H., You Y., Yan H. et al., Biomaterials, 2012, 33, 659–667.
6. Stetsenko D., Kupryushkin M., Pyshnyi D., заявка на патент WO2016/028187A1, приоритет от 22.08.2014.
7. Купрюшкин М. С., Пышный Д. В., Стеценко Д. А., Acta Naturae, 2014, 6, 125–128.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-29-01334. Синтез олигонуклеотидов осуществлен за счет гранта РНФ № 14-44-00068

РАСЧЕТ КОНСТАНТ ИОНИЗАЦИИ pK И СОДЕРЖАНИЯ ТРЕХ ФОРМ ОСТАТКОВ ГИСТИДИНА В БЕЛКАХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ pH РАСТВОРА

Воробьев Ю.Н.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

Аминокислота гистидин (His) в белках обладает уникальными свойствами: 1) порядка 50% ферментов содержат остатки His в активном центре; 2) pK His равна 6.6, т.е. находится вблизи нейтральных значений pH, что позволяет депротонированному имидазольному кольцу служить лигандом для связывания ионов металлов; 3) имидазольное кольцо нейтрального His существует в двух химически разных таутомерных формах, а именно, $N^{\delta 1}$ -H и $N^{\epsilon 2}$ -H, тогда как заряженная форма His^+ единственна. Достоверное определение содержания трех форм гистидина на основе данных ЯМР высокого разрешения достаточно трудоемко и мало используется, поэтому разработка методов расчета на основе известной пространственной структуры белка является актуальной задачей.

Нами разработан метод расчета констант ионизации и кривых титрования белка с учетом трех форм остатков гистидина, а также двух нейтральных форм кислотных остатков. Тестовые расчеты выполнены для белка 1E1A состоящего из 314 аминокислотных остатков с двумя ионами Ca. Для учета тепловой динамики структуры белка выполнено моделирование тепловой динамики методом молекулярной динамики в водном растворе при комнатной температуре и 0.15 М одновалентной соли, в течение 12 нс. Вдоль равновесной МД траектории в 10 нс рассчитаны средние значения констант ионизации и содержание трех форм 6-ти остатков His при pH 6.5.

Сравнение расчетных и экспериментальных данных показывает удовлетворительное соответствие с ошибкой в пределах 15-20%.

Работа частично поддержана грантами РФФИ № 15-04-00387, программы РАН МКБ (6.11), РФФИ № 16-14-10038

НОВЫЕ КОМПЬЮТЕРНЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ ДЛЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИИ ГИБРИДИЗАЦИОННЫХ СВОЙСТВ ПРОИЗВОДНЫХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Голышев В. М.^{1,2}, Ломзов А. А.¹, Абрамова Т. В.¹, Пышный Д. В.¹

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины,
Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский Государственный Университет, Новосибирск, Россия*

Олигонуклеотиды – короткие синтетические фрагменты нуклеиновых кислот широко применяются для исследования молекулярно-биологических процессов, используются в качестве молекулярных зондов в генодиагностике и являются перспективными терапевтическими агентами. На данный момент существует большое число различных производных нуклеиновых кислот с улучшенными свойствами. Для успешного применения производных нуклеиновых кислот, они должны обладать требуемыми характеристиками. Одним из их важнейших свойств является способность образования комплексов с ДНК и РНК. Целью данной работы является разработка подходов для надежного расчета и предсказания гибридизационных свойств новых морфолиновых производных нуклеиновых кислот [1].

Нами разработаны модели для достоверного определения термодинамических параметров комплексообразования (изменения энтальпии, энтропии и свободной энергии Гиббса) на основании данных полученных методом термической денатурации с оптической регистрацией сигнала. В качестве модельной системы были выбраны тандемные комплексы олигонуклеотидов, содержащие от 2 до 5 последовательно расположенных нативных или модифицированных пентааденилатов на олиготиминовой матрице. Проведено моделирование методом молекулярной динамики как нативных, так и модифицированных комплексов в явной водной оболочке. Анализ 1мкс траектории позволил определить величину энтальпии комплексообразования и кооперативного взаимодействия на стыках дуплексных структур. Экспериментальные данные и данные, полученные методом молекулярной динамики близки между собой.

Таким образом, нами впервые показана возможность рассчитывать гибридизационные параметры комплексов новых нуклеиновых кислот методом молекулярной динамики.

1. Абрамова Т. В., Сильников В. Н. Синтез и свойства модифицированных по углеводородному остову аналогов олигонуклеотидов и миметиков нуклеиновых кислот // Успехи химии. – 2011. – Т. 80. – №. 5. – С. 452-476.

Выполнение данной работы поддержано РФФИ #16-04-01029, ФИМТ-2014-154

ПРОЦЕССИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ОСНОВАНИЙ

Дятлова Е. А.¹, Мечетин Г. В.¹, Жарков Д. О.^{1,2}

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия

²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

Проблема быстрого поиска мишеней на фоне огромного избытка неспецифичной ДНК актуальна для транскрипционных факторов, эндонуклеаз рестрикции, ферментов репарации и для любых других белков, имеющих специфичные сайты связывания в ДНК. Наибольшая скорость и эффективность поиска специфичной последовательности осуществляется путем сочетания одномерной диффузии вдоль двойной спирали (процессивный механизм поиска) и трехмерной диффузии (дистрибутивный механизм). Преобладание одного или другого механизма зависит от факторов, влияющих на ДНК-белковые взаимодействия. К ним относятся присутствие в клеточной среде моно- и дивалентных ионов металлов, наличие других белков, конкурирующих за связывание с ДНК, эффект вытесненного объема и т. п.

К настоящему времени область изучения механизмов поиска мишеней различными ферментами в ДНК изучена слабо в канонических структурах, а в неканонических литературные данные и вовсе отсутствуют. Изучение этих механизмов в неканонических, в том числе трехмерных структурах, представляет интерес, как в фундаментальной, так и в прикладной сфере, например, для создания инструментов адресной доставки лекарств.

Для исследования процессивности использовался метод, основанный на расщеплении специально сконструированного ДНК-субстрата, позволяющий точно контролировать расстояние между фермент-специфическими сайтами расщепления, а также вводить в субстрат модификации практически любой химической природы. Для определения начальной скорости реакции проводились в условиях большого избытка субстрата над ферментом, затем рассчитывалась P_{cc} – вероятность коррелированного расщепления субстрата.

В работе была оценена процессивность четырех ферментов репарации: бифункциональной гликозилазы Nei из *E.coli*, недавно обнаруженных человеческих гликозилаз NEIL1 и NEIL2, а также монофункциональной урацил-ДНК-гликозилазы (UNG) из вируса осповакцины. Показано, что процессивность всех исследуемых ферментов зависит от ионной силы раствора. Однако, в отличие от урацил-ДНК-гликозилазы вируса осповакцины, для которой значение P_{cc} убывало монотонно с ростом ионной силы, для исследованных в работе бифункциональных гликозилаз эта величина имела оптимум при низких концентрациях KCl, что свидетельствует о вкладе неионных взаимодействий в их связывание с неспецифической ДНК. Кроме того, было показано, что наличие объемной флуоресцентной метки между повреждениями значительно снижает способность фермента осуществлять поиск с помощью процессивных механизмов.

Работа поддержана грантом Президента РФ МК-4811.2016.4

ВЛИЯНИЕ НЕКАНОНИЧЕСКИХ НУКЛЕОТИДОВ НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ АНАЛОГОВ МАЛЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК В КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА

Журавлев Е. С.^{1,2}, Степанов Г. А.¹, Шендер В. О.³, Нуштаева А. А.¹, Касакин М. Ф.¹,
Кулигина Е. В.¹, Рихтер В. А.¹, Семенов Д. В.¹

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

³*Институт биоорганической химии РАН, Москва, Россия*

К группе некодирующих РНК (нкРНК) относятся разнообразные РНК, выполняющие многочисленные функции в клетках. К наиболее часто встречаемым в природных формах РНК относятся нуклеотиды, метилированные по остатку рибозы или основания, и псевдоуридины (Ψ), а также моно- или три-метилгуанозин в структуре кэпа.

Целью данной работы является исследование влияния неканонических нуклеотидов на функционирование аналогов нкРНК в клетках человека. В качестве модели для исследования были выбраны малые ядерные РНК (мяРНК) и малые ядрышковые РНК (мяоРНК). В клетках эукариот мяРНК формируют ядро сплайсосом и катализируют удаление интронов при процессинге пре-мРНК; мяоРНК, относящиеся к семейству C/D-бокс-РНК, в составе рибонуклеопротеидных комплексов направляют 2'-О-метилирование нуклеотидов рибосомных РНК.

На начальном этапе были получены аналоги трех C/D-бокс-РНК U25, U35a и U74 и двух мяРНК U6atac и U12 человека. Синтетические РНК содержали в своем составе неканонические нуклеотиды, характерные для природных нкРНК, а именно, m₆A, m₅C и Ψ. Кроме того, в структуре полученных аналогов проводили замену остатка трифосфата на 5'-конце на монофосфат (для всех аналогов мяоРНК и мяРНК) или структуру кэпа, аналогичную природной (m⁷G для U6 и m^{2,2,7}G для U12). Для оценки содержания неканонических мономеров в структуре синтетических и природных РНК был оптимизирован подход исчерпывающего гидролиза РНК до нуклеозидов с последующим качественным анализом состава смеси тандемной хроматомасс-спектрометрией.

В ходе трансфекции аналогов в клетки аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 и MDA-MB-231 было установлено, что замена трифосфата на 5'-конце и введение в структуру аналогов нкРНК неканонических нуклеотидов снижают уровень активации врожденного иммунного ответа в клетках человека. Так, по сравнению с немодифицированными аналогами уровень активации гена IFIT3 снижался до 40 раз при одновременном удалении остатка трифосфата на 5'-конце и введении в последовательность РНК псевдоуридина (до 30%) и 5-метилцитидина (до 20%). Также было выявлено, что выбранные модификации обеспечивали понижение цитотоксического действия синтетических РНК в пределах 30%.

Таким образом, введение в структуру аналогов нкРНК мономеров с неканоническими основаниями позволяет снизить их неспецифические эффекты на клетки человека, что представляется перспективным для создания на их основе искусственных регуляторов экспрессии генов.

*Работа поддержана Грантами РФФИ 16-04-01414, 16-34-60136, 16-04-01457 и
Стипендией Президента РФ молодым ученым (2063.2015.4)*

СИСТЕМНАЯ ДОСТАВКА ОПУХОЛЕВОЙ РНК В КОМПЛЕКСЕ С МАННОЗИЛИРОВАННЫМИ ЛИПОСОМАМИ АКТИВИРУЕТ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ЦИТОТОКСИЧЕСКИЙ Т-КЛЕТОЧНЫЙ ОТВЕТ НА МОДЕЛИ МЕЛАНОМЫ МЫШИ

Марков О. В.¹, Миронова Н. Л.¹, Шмендель Е. В.², Маслов М. А.², Зенкова М. А.¹

¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

²Институт тонких химических технологий, Московский технологический университет, Москва, Россия

Противоопухолевый потенциал дендритно-клеточных (ДК) вакцин напрямую зависит от эффективности доставки опухолевых антигенов (ОАГ) в ДК. Источником ОАГ для нагрузки ДК вакцин служила суммарная опухолевая РНК клеток меланомы В16-F10 мыши (РНК-В16). В качестве трансфектанта использовали маннозилированные липосомы (МЛ), адресованные к маннозным рецепторам ДК. МЛ состояли из маннозилированного липоконъюгата (3-[6-(α -D-маннопиранозилокси)гексил]амино-4-{6-[гас-2,3-ди(тетрадецилокси)проп-1-илоксикарбониламино]гексил]аминоциклобут-3-ен-1,2-дион), поликатионного липида 2X3 (1,26-бис(холест-5-ен-3 β -илоксикарбониламино)-7,11,16,20-тетраазагексакозан тетрагидрохлорид) и липида-хелпера DOPE (1,2-диолеил-sn-глицеро-3-фосфоэтаноламин) в мольном соотношении (1:3:6).

В работе проведено сравнение противоопухолевого цитотоксического Т-лимфоцитарного (ЦТЛ) ответа, запускаемого после доставки РНК-В16 в ДК с помощью МЛ *ex vivo* и *in vivo*. Системное введение мышам-носителям меланомы комплексов МЛ/РНК-В16 стимулировало активацию эффективных ЦТЛ, которые лизировали клетки меланомы В16-F10 *in vitro* с такой же эффективностью, как и ЦТЛ, активированные после введения животным ДК вакцин, нагруженных комплексами такого же состава *ex vivo* (снижение количества клеток меланомы в 2.8 раза относительно контроля). Контрольные липосомы, не содержащие маннозилированного липоконъюгата, опосредовали запуск менее эффективного противоопухолевого ЦТЛ-ответа при доставке РНК-В16 в ДК как *in vivo*, так и *ex vivo* (количество клеток меланомы *in vitro* снизилось в 1.6-1.8 раз относительно контроля).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ 13-04-40181-Н и ФЦНТП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы» (соглашение № 14.607.21.0043, уникальный идентификатор RFMEFI60714X0043), Стипендии Президента СП- 4766.2016.4.

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНОЙ МС-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ДНК-ГЛИКОЗИЛАЗЫ ROS1 В ОТНОШЕНИИ СУБСТРАТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ КОМБИНАЦИЯМИ 5-МЕТИЛЦИТОЗИНА И 5-ГИДРОКСИМЕТИЛЦИТОЗИНА

Петрова Д. В.^{1,2}, Грин И. Р.^{1,2}, Жарков Д. О.^{1,2}

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
Новосибирск, Россия*

²*Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

Метилирование ДНК представляет собой особый механизм контроля активности генов, который получил максимальное развитие у высших эукариот. 5-метилцитозин (mC) считается обратимой эпигенетической меткой, которая играет важную роль в регуляции транскрипции генов и защите генома от мобильных элементов. Процесс метилирования ДНК в клетках как млекопитающих, так и растений сопряжен с процессами как активного, так и пассивного деметилирования. Недавние исследования в области механизмов активного деметилирования ДНК показали, что эпигенетическую роль в геноме млекопитающих также играет окисленное производное mC — 5-гидроксиметилцитозин (hmC).

У млекопитающих деметилирование mC требует его дезаминирования или окисления и проходит с участием нескольких ферментов. Напротив, у растений обнаружены два уникальных фермента с 5-метилцитозин специфической ДНК-гликозилазной активностью. Эти ферменты, DEMETER (DME) и REPRESSOR OF SILENCING 1 (ROS1), принимают участие в регуляции статуса метилирования отдельных участков ДНК растений, от которого зависит импринтинг генов при наследовании по отцовской или материнской линии и сайленсинг или активация промоторов отдельных генов в жизненном цикле растений.

Целью работы было клонирование кДНК гена ROS1 *Nicotiana tabacum*, выделение рекомбинантного белка ROS1 и характеристика его субстратной специфичности в отношении субстратов с различными комбинациями mC и hmC. Для получения фрагмента гена ROS1 длиной 3129 п. н., кодирующего все известные функциональные домены белка, была выделена общая РНК из табачного листа, который предварительно подвергали солевому стрессу в 300 мМ растворе NaCl, проведена реакция обратной транскрипции и ПЦР. Продукты ПЦР клонировали методом безлигазного клонирования для экспрессии под промотором РНК-полимеразы T7. Исследование активности белка ROS1 проводили на субстратах, содержащих полуметилированный или полностью метилированный CpG-сайт, а также CpG-сайт, в котором один или два mC заменены на hmC.

В результате был получен каталитически активный фрагмент ДНК-гликозилазы ROS1 с молекулярной массой 117 кДа. Было показано, что полученный белок проявляет хорошую активность в отношении полуметилированных, полностью метилированных субстратов, а также субстратов, содержащих один или два hmC, либо комбинацию mC в расщепляемой цепи, а hmC в комплементарной цепи. В целом специфичность ROS1 в отношении mC выше, чем в отношении hmC.

АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ

A

Ahmad S. 117
 Akulov A. E. 127, 191
 Alexeeva L. A. 176
 Ame J. C. 114
 Amirhanov N. V. 59
 Anisimenko M. S. 60
 Ansari A. 117
 Antonova N. M. 127, 191
 Aparin I. O. 52
 Apartsin E. 79
 Apukhtina V. S. 51, 174
 Aralov A. V. 52
 Arzumanov A. A. 75

B

Bartuli Y. S. 149
 Bazhenov M. A. 63
 Beard W. A. 102
 Belousova E. A. 109
 Bessudnova E. V. 77
 Bichenkova E. 62, 63, 66
 Bondar A. A. 125
 Boutorine, A. S. 76
 Brenner E. V. 72
 Brylev V. A. 52
 Bryszewska M. 79
 Buneva V. N. 138
 Burakova E. A. 51, 60

C

Çağlayan M. 102
 Caminade A.-M. 82
 Chelobanov B. P. 51, 75, 77, 174
 Cherdyntseva N. V. 173
 Chernikov I. V. 74
 Chernolovskaya E. L. 69, 74, 83, 163
 Chertovich A. T. 140
 Chistov A. A. 52
 Chubarov A. S. 127, 191
 Cuneo M. J. 102

D

David J. Clarke 80
 Davydova A. S. 157
 Demonacos G. 71
 Dmitrienko E. V. 59
 Dontsova O. 141
 Dovydenko I. S. 53

E

Epanchintseva A. V. 54
 Escudé C. 76

F

Fedorova O. S. 170
 Filatov A. V. 56, 83
 Filippov D. V. 115

Filippov N. S. 58
 Filippova J. A. 70
 Flyamer I. M. 140
 Fokina A. A. 51, 75
 Fomin B. I. 59
 Frank L. A. 159
 Freudenthal B. D. 102

G

Gait M. J. 75
 Gavrilov A. A. 140
 Gelfand M. S. 140
 Gladkikh D. V. 74, 83
 Go Minematsu 68
 Godovikova T. S. 90, 127, 191
 Gómez R. 79
 Gopanenko A. V. 150
 Graifer D. M. 149, 152
 Grosheva A. S. 152

H

Hashem Y. 148
 Hirohumi Fujii 68

I

Ilina E. S. 114
 Ismagilov Z. R. 78
 Ivanov N. M. 52

J

Juravlev E. S. 70

K

Kabilov M. R. 125, 150, 157, 159
 Kabilova T. O. 69, 83, 163
 Kaledin V. I. 90, 127
 Karpova G. G. 148, 149, 150, 152
 Khan M. S. 117
 Khodyreva S. N. 114
 Khrameeva E. E. 140
 Kistemaker H. A. V. 115
 Kizilova V. A. 58
 Koptyug I. V. 127, 191
 Korelskaya K. S. 52
 Korshun V. A. 52
 Kos P. T. 140
 Kossinova O. 148
 Krasheninina O. A. 192
 Krasitskaya V. V. 159
 Krol A. 148
 Krstic-Demonacos M. 71
 Kuligina E. V. 70, 161
 Kunchai S. 71
 Kupryushkin M. S. 56, 57, 59
 Kurilshikov A. M. 72, 125
 Kutuzov M. M. 114
 Kutyakov S. V. 52
 Kuznetsov N. A. 170

L

Laktionov P. P. 125, 131, 150, 173
 Lavrik O. I. 109
 Levina A. S. 77, 78
 Linda T. Trivoluzzi 64
 Lisitskiy V. A. 90, 127
 Loll F. 76
 Lomzov A. A. 57, 58, 162
 Lukina M. V. 170

M

Madoka Naemura 68
 Majoral J.-P. 79, 82
 Malyavko A. 141
 Malygin A. A. 148, 150
 Mantsizov A. 141
 Markov O. V. 83
 Masayuki Fujii 68
 Maslov M. 83
 Mazurkova N. A. 77, 78
 Mc Clorey G. 75
 Meschaninova M. I. 53, 74, 149
 Mironova N. L. 63, 72, 162, 176
 Miroshnichenko S. K. 63, 162
 Mohd Sajid Khan 94
 Morozkin E. S. 125, 173
 Morozov V. V. 161
 Moshkin M. P. 127, 191
 Mozhaytsev E. S. 53
 Mustaev A. 123
 Myasoutova A. A. 52

N

Naraykina Y. 141
 Naumova O. V. 59
 Nekrasov M. D. 56
 Nevinsky G. A. 138, 159
 Nikolin V. P. 69
 Novopashina D. S. 192
 Nozeret K. 76
 Nushtaeva A. A. 70

O

Orlov A. A. 52
 Orlovskaya I. A. 138
 Osolodkin D. I. 52
 Overkleef H. S. 115

P

Patric King 65
 Patutina O. A. 63, 72, 162, 176
 Permyakova E. S. 53
 Petrova O. 141
 Polshakov V. 141
 Ponomaryova A. A. 173
 Popova N. A. 69, 138
 Popova T. V. 90, 127

Potyvaeva A. V. 59
Prokhorenko I. A. 52
Prokhorova D. V. 51, 174
Proskurin G. V. 52
Pyshnaya I. A. 54, 59
Pyshnyi D. V. 54, 55, 56, 57, 58, 59,
63, 157

R

Razin S. V. 140
Razum K. V. 54
Razumov I. A. 127, 191
Rebout C. 82
Repkova M. N. 77, 78
Richter V. A. 161
Richter V. A. 70
Rodina E. 141
Rubtsova M. 141
Ryabchikova E. I. 54, 90
Rykova E. Y. 173

S

Sapozhnikova K. A. 52
Sassa A. 102
Savelyeva A. V. 161
Semenov D. V. 59, 70, 161
Sen'kova A. V. 69, 176
Sharifulin D. E. 149
Shashkova V. V. 54
Shatskaya N. V. 78
Shcharbin D. 79
Shender V. O. 70
Shevelev G. Y. 56, 57, 58
Shevelyov Y. Y. 140
Shinichi Kashiara 68
Shmanai V. V. 52
Shmendel E. 83
Silnikov V. N. 127, 191
Skvortsova T. E. 173
Stahl J. 152
Staroseletz Y. 66
Stepanov G. A. 70
Stepanova A. O. 131
Stetsenko D. A. 51, 60, 75, 77, 174
Streshnev F. P. 52
Sukhanova M. V. 114

T

Tikunova N. V. 157
Timoshenko V. V. 159
Tronin A. V. 59
Tupikin A. E. 150
Tyurin A. P. 52

U

Ulashchik E. A. 52
Ulianov S. V. 140
Ustinov A. V. 52

V

van der Marel G. A. 115

Vasilyeva S. V. 51, 60
Ven'yaminova A. G. 53, 74, 79,
149, 157, 159, 192
Vinogradova O. A. 58
Vlassov V. V. 63, 69, 74, 125, 163,
173
Vorobjev P. E. 54
Vorobyeva M. A. 157, 159
Voysitskiy V. E. 125
W
Williams A. 66
Wilson S. H. 102
Wood M. J. A. 75

Y

Yasuhiro Shinkai 68
Yojiro Kotake 68

Z

Zakharova O. D. 90, 127, 191
Zakhryamina A. E. 51
Zaporozhchenko I. A. 173
Zaripov M. M. 125
Zarytova V. F. 77, 78
Zavjalov E. L. 127, 191
Zenkova M. 63, 66, 69, 72, 74, 83,
162, 163, 176
Zenkova M. 83
Zharkov D. O. 152, 170
Zhdanova L. G. 60
Zhorov M. I. 163
Zvereva M. 141

A

Абрамова Т. В. 87, 91, 200
Абросимова Л. А. 145
Алексеева И. В. 156
Алексеев И. В. 97
Алемасова Е. Э. 164
Алфёрова В. А. 98, 185
Аминин Д. Л. 128
Анарбаев Р. О. 101
Аникеев А. В. 181
Антонец Д. В. 129
Апарин И. О. 182, 196
Апухтина В. С. 198
Аралов А. В. 183, 188, 190

Б

Бажан С. И. 129
Байборodin С. И. 93
Байков И. К. 136
Бакакина Ю. С. 153
Баранов К. О. 118
Баранова С. В. 180
Безбородова О. А. 97
Беленикин М. С. 154
Берлина Я. Ю. 196
Бессмельцев В. П. 85
Бондаренко Д. А. 136

Бондарь А. А. 133
Борисов С. А. 193
Бриджеш Ратхи 182
Бритвин С. Н. 88
Брылёв В. А. 182, 183, 185
Бунева В. Н. 155
Буркова Е. Е. 179
Бычкова О. П. 98

В

Вабищевич К. А. 194
Варижук А. М. 189
Васильева И. А. 101
Веньяминова А. Г. 151
Власик Т. Н. 196
Власов В. В. 119, 133
Войцицкий В. Е. 153, 154
Волкова О. Ю. 118
Волотовский И. Д. 153
Волошин С. В. 187
Волошина А. Д. 92
Волчо К. П. 106
Воробьев Ю. Н. 172, 184, 199
Выштакалюк А. Б. 126

Г

Габитов А. Г. 46
Гавшина А. В. 145
Галяметдинова И. В. 126
Ганичев Д. А. 119
Гарбуз М. М. 128
Гарифуллин А. Д. 187
Геворков А. Р. 97
Генинг Л. В. 113
Гилева И. П. 120
Гладких Е. Г. 185
Гладких И. Н. 128
Гольшев В. М. 200
Гольшев С. А. 146
Гончарова Е. П. 137
Гопаненко А. В. 151
Горчаков А. А. 118, 121
Готтих М. Б. 144
Гражданцева А. А. 124
Грин И. Р. 108, 204
Гумарова Л. Ф. 126
Гусельников С. В. 118

Д

Дворникова А. П. 167
Деженков А. В. 189
Дмитренко П. С. 180
Доброев А. Ю. 133
Добролюбова Ю. О. 178
Дубовская Л. В. 153
Дужак Т. Г. 122
Дульцев Ф. Н. 89, 195
Душкин А. В. 193
Дырхеева Н. С. 102
Дятлова Е. А. 201

Е

Евдокимов А. Н. 107, 111
Ендуткин А. В. 166
Есюнина Д. М. 142

Ж

Жарков Д. О. 103, 166, 167, 171, 184, 201, 204
Железная Л. А. 145
Журавлев Е. С. 202

З

Завьялов А. А. 133
Захаренко А. Л. 87, 91, 106
Захарова О. Д. 106
Зацепин Т. С. 190
Зеленцова Е. А. 12
Зелепуга Е. А. 128
Зенкова М. А. 132, 134, 137, 203
Зобнина А. Е. 88
Зобов В. В. 92, 126

И

Иванова С. А. 156
Ильичев А. А. 129
Исаева М. П. 128
Ищенко А. А. 108

К

Кабилов М. Р. 151
Кабилова Т. О. 132
Кадцын Е. Д. 181
Казаченко К. Ю. 113
Калина Р. С. 128
Камаев Г. Н. 85
Караваева Ю. Е. 146
Карпенко Л. И. 129
Карпова Г. Г. 151
Касакин М. Ф. 202
Катруха Г. С. 185
Кветкина А. Н. 128
Квон Р. И. 135
Ким А. В. 186
Кириллова Ю. Г. 189
Кирюшина Н. А. 153, 154
Киселёва Е. В. 151
Кладова О. А. 169
Кнорре Д. А. 146
Коваль В. В. 105, 110, 194
Коваль О. А. 124, 130
Козлова Ю. Н. 119
Козловская Л. И. 182, 183
Козловская Э. П. 128
Козловский С. А. 128
Колосовский Е. А. 89
Кондрашина Д. А. 126
Королев А. М. 98, 185
Коршун В. А. 98, 182, 183, 188, 196
Косинова О. А. 151
Косова А. А. 165

Костина Е. В. 86
Кочетков С. Н. 47
Кочнева Г. В. 124
Краморенко Н. В. 147
Крашенинина О. А. 151
Крылова Е. С. 92
Кубарева Е. А. 112, 145
Кудан П. В. 185
Кузнецов Н. А. 104, 168, 169, 172
Кузнецова В. В. 121
Кулемзин С. В. 118, 121
Кулигина Е. В. 124, 130, 202
Кулик Н. В. 92
Кульбачинский А. В. 142, 143
Куляева В. В. 185
Курь Н. Н. 195
Кутузов М. М. 87, 91
Кутяков С. В. 188

Л

Лаврик О. И. 87, 91, 100, 101, 102, 106, 107, 110, 111, 164, 165, 175
Лактионов П. П. 129, 133, 135, 153, 154
Лапчинская О. А. 185
Лебедева Н. А. 110
Лейченко Е. В. 128
Ленина О. А. 92, 126
Лимборская С. А. 48
Липеева А. В. 95
Логашенко Е. Б. 134
Ломзов А. А. 89, 105, 110, 194, 195, 200
Лузина О. А. 106
Лукьянчикова Н. В. 111, 175

М

Макарова А. В. 113
Макарцова А. А. 130
Максакова Г. А. 86
Максютов Р. А. 120
Малыгин А. А. 151
Марков А. В. 134
Марков О. В. 203
Маслов М. А. 81, 203
Матвеев А. Л. 136, 198
Матвеев Л. Э. 136
Медведев Н. Н. 181, 186
Мечетин Г. В. 201
Миронова Н. Л. 203
Миропольская Н. А. 113
Мирошникова А. Д. 168
Монастырная М. М. 128
Монахова М. В. 112
Моор Н. А. 101, 164
Морозова В. В. 119
Морозова Н. Г. 81

Мурашев А. Н. 136
Мясоедов Н. Ф. 48

Н

Назаркина Ж. К. 129
Назаров Н. Г. 126
Науменко К. Н. 164
Наякшин А. М. 118
Невинский Г. А. 155, 178, 179, 180
Недоспасов С. А. 49
Немудрая А. А. 130
Немцова Е. Р. 97
Непомнящих Т. С. 120
Нидхи Джайн 182
Новиков Р. А. 98
Носенко Т. Н. 187
Нуштаева А. А. 202

О

Орецкая Т. С. 145
Орлов А. А. 182, 183, 188
Орловская И. А. 120
Осолодкин Д. И. 182, 183

П

Падкина М. В. 88
Парфенов А. А. 126
Перегудов А. С. 98
Пестряков П. Е. 164
Петров И. С. 137
Петрова Д. В. 204
Петрусева И. О. 107, 111, 175
Петушков И. В. 142, 143
Пислягин Е. А. 128
Плотникова Л. В. 187
Позмогова Г. Е. 189
Покровский М. А. 96
Поливанов П. А. 85
Поляничко А. М. 187
Пономарева А. А. 133
Попов А. В. 107, 184
Принц В. В. 155
Проскурин Г. В. 183, 188
Прохоренко И. А. 98, 185, 196
Пупов Д. В. 142
Пышный Д. В. 89, 195

Р

Резник В. С. 126
Рейниссон Й. 106
Репкова М. Н. 93
Речкунова Н. И. 110
Рихтер В. А. 124, 130, 202
Рогожин Е. А. 98, 185
Руженкова Ю. С. 137
Румянцев А. М. 88
Рыкова Е. Ю. 133
Рябинин В. А. 86
Рябчикова Е. И. 93
Рязанова А. Ю. 112

С

Савин И. А. 132
Салахутдинов Н. Ф. 106, 134, 197
Саломатина О. В. 134
Сапожникова К. А. 182
Сасс А. В. 97
Свердлов Е. Д. 97
Северин Ф. Ф. 146
Седых С. Е. 155
Семенов В. Э. 92, 126
Семенов Д. В. 202
Сенечко А.Я. 158
Сенников С. В. 120
Сенькова А. В. 132
Сердюков Д. С. 154
Сиволобова Г. Ф. 124
Силков А. Н. 120
Сильников В. Н. 87, 91
Симмерлинг К. 166
Симуткин Г. Г. 156
Синцова О. В. 128
Синяков А. Н. 85, 86
Скоблов Ю. С. 196
Скоблов М. Ю. 196
Слюндина М. С. 98, 185
Смирнов И. П. 189
Смирнова Е. А. 146
Соболева С. Е. 178
Соколов С. С. 146
Сократян А. М. 118
Сомов А. К. 153
Сормачева Е. Д. 122
Сорокина И. В. 96
Ссолодкин Д. И. 188
Старостенко Л. В. 110
Степанов Г. А. 202
Степанова А. О. 135
Степашкина Е. А. 98
Стеценко Д. А. 93, 198
Стрешнев Ф. П. 182
Стробыкина А. С. 92
Стронин О.В. 136
Суслов Е. В. 106
Суханова М. В. 87, 91

Т

Тамкович С. Н. 151, 153, 154
Танкевич М. В. 189
Таранин А. В. 118, 121
Тарантул В. З. 113
Терехова Л. П. 98
Тикунова Н. В. 119, 136, 198
Тимофеева Н. А. 156
Ткачева А. В. 124
Толстикова Т. Г. 193
Топольян А. П. 185
Трегубчак Т. В. 120
Тренин А. С. 98

Троицкая О. А. 124
Тузиков С. А. 133
Тупикин А. Е. 151
Тутанов О. С. 153, 154
Тюгашев Т. Е. 172
Тюрин А. П. 98, 185

У

Успенская М. В. 187

Ф

Федорова Г. Б. 98
Федорова О. С. 104, 156, 168, 169, 172
Формановский А. А. 196
Фридрихс П. 112

Х

Харитонов Ю. В. 96
Хвостов М. В. 193
Хлусевич Я. А. 136, 198
Хмелевский Е. В. 97
Ходырева С. Н. 165
Хоменко Т. М. 106

Ц

Центалович Ю. П. 122, 154

Ч

Челобанов Б. П. 93, 198
Чердынцева Н. В. 133
Черепнев Г. В. 126
Черникова Д. С. 118
Черноловская Е. Л. 132
Черноносов А. А. 156
Черноносова В. С. 135
Чернышов В.В. 197
Чикаев Н. А. 118, 121
Чистов А. А. 182, 183, 188
Чистов А. А. 183

Ш

Шайхлисламова А.Р. 158
Шевелев Г. Ю. 195
Шелепова Е.А. 186
Шелковников В. В. 85
Шендер В. О. 202
Шенкарёв З. О. 185
Шерин П. С. 122
Шерстюк Ю. В. 87, 91
Шлихт А. Г. 147, 154
Шмендель Е. В. 203
Шпаковский Г. В. 190
Шувалов М. В. 98, 185
Шульц Э. Э. 95, 96
Щелкунов С. Н. 120

Ю

Юдкина А. В. 171
Юнусова Н. В. 153
Юрченко Е. А. 128

Я

Яковлев Д. А. 169
Якубовская Р. И. 97
Яньшина Д. Д. 151
Яньшолё В. В. 122
Яровая О.И. 197

СПИСОК УЧАСТНИКОВ

1. Ahmad Saheem

Integral University, Lucknow, India, saheem@iul.ac.in

2. Alekseeva Ludmila

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, mila_alex@niboch.nsc.ru

3. Apartsin Evgeny

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, eka@niboch.nsc.ru

4. Bichenkova Elena

University of Manchester, Manchester, UK, Elena.V.Bichenkova@manchester.ac.uk

5. Clarke David

University of Manchester, Manchester, UK, david.clarke@manchester.ac.uk

6. Demonacos Costas

University of Manchester, Manchester, UK, cdemonacos@manchester.ac.uk

7. Filippov Dmitri

Leiden University, Leiden, Holland, filippov@chem.leidenuniv.nl

8. Fokina Alesya

Новосибирск, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, alesya_fokina@mail.ru

9. Fujii Masayuki

Kindai University, Iizuka, Japan, mfujii@fuk.kindai.ac.jp

10. Gladkikh Daniil

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, medulla35@gmail.com

11. King Patrick

University of Manchester, Manchester, UK, Patrick.King@manchester.ac.uk

12. Lomzov Alexander

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, lomzov@niboch.nsc.ru

13. Mironova Nadezda

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, mironova@niboch.nsc.ru

14. Miroshnichenko Svetlana

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, sveta-mira@yandex.ru

15. Mustaev Arkady

PHRI Center at Rutgers, the State University of New Jersey, Newark, USA, mustaear@njms.rutgers.edu

16. Boutorine Alexandre S.

Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France, CNRS UMR 7196, INSERM U1154, alexandre.boutorine@mnhn.fr

17. Patutina Olga

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, patutina@niboch.nsc.ru

18. Prohorova Daria

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090.

19. Staroseletz Yaroslav

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, staroselec@niboch.nsc.ru

20. Stetsenko Dmitry

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, dmitry.stetsenko@ntlworld.com

21. Trivoluzzi Linda

University of Manchester, Manchester, UK, Linda.trivoluzzi@gmail.com

22. Zhorov Mikhail

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, zz-mik@yandex.ru

23. Абросимова Людмила

МГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, ГСП-1, Москва, Россия, abrludmila@gmail.com

24. Аврамчук (Попова) Татьяна

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, io197724@gmail.com

25. Алексеенко Ирина

Институт биоорганической химии им. ак. М.М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова, ул. Миклухо-Маклая, дом 16/10, ГСП-7, Москва, Россия, 117997, irina.alekseenko@mail.ru

26. Алемасова Елизавета

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, lisenok.istreb@gmail.com

27. Тюрин Антон

НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, ул. Большая Пироговская, д. 11, Москва, Россия, 119435, anton2rin@gmail.com

28. Антонова Наталья

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, nat.antonova.2@gmail.com

29. Апухтина Валерия

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, valeria_apukhtina@mail.ru

30. Баранова Светлана

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, swb@niboch.nsc.ru

31. Белоусова Екатерина

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, rina@niboch.nsc.ru

32. Бондарь Анна

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, a_bondar@niboch.nsc.ru

33. Проскурин Глеб

Институт биоорганической химии им. ак. М.М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова, ул. Миклухо-Маклая, дом 16/10, ГСП-7, Москва, Россия.

34. Буркова Евгения

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, jorochka24@mail.ru

35. Буракова Екатерина

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, kat7@ngs.ru

36. Волошина Александра

ИОФХ им. А.Е. Арбузова Каз НЦ РАН, ул. академика Арбузова, 8, Казань, респ. Татарстан, Россия, 420088, sobaka-1968@mail.ru

37. Выштакалюк Александра

ИОФХ им. А.Е. Арбузова Каз НЦ РАН, ул. академика Арбузова, 8, Казань, респ. Татарстан, Россия, 420088, alex.vysh@mail.ru

38. Годовикова Татьяна

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, t_godovikova@mail.ru

39. Гопаненко Александр

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, alexandr.gopanenko@yandex.ru

40. Грайфер Дмитрий

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, graifer@niboch.nsc.ru

41. Грин Инга

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, grin.inga@gmail.com

42. Грошева Анастасия

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, scorpionfly.a@gmail.com

43. Дворникова Антонина

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, antdovgerd@gmail.com

44. Дмитриенко Елена

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, Elena.dmitrienko@niboch.nsc.ru

45. Дульцев Федор

Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН, пр. Лаврентьева 13, Новосибирск, Россия, 630090, fdultsev@isp.nsc.ru

46. Дыркеева Надежда

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, dyrkheeva.n.s@gmail.com

47. Дятлова Евгения

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, jannie.lapt@gmail.com

48. Евдокимов Алексей

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, an_evdokimov@mail.ru

49. Ендуткин Антон

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, Aend@niboch.nsc.ru

50. Жарков Дмитрий

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, dzharkov@niboch.nsc.ru

51. Запорожченко Иван

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, ivanzap@niboch.nsc.ru

52. Зарытова Валентина

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, zarytova@niboch.nsc.ru

53. Захаренко Александра

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, sashaz@niboch.nsc.ru

54. Аралов Андрей

Институт биоорганической химии им. ак. М.М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова,
ул. Миклухо-Маклая, дом 16/10, ГСП-7, Москва, Россия, Baruh238@mail.ru

55. Зеленцова Екатерина

Институт "Международный томографический центр" СО РАН, ул. Институтская 3а,
Новосибирск, Россия, 630090, zelentsova@tomo.nsc.ru

56. Зобнина Анастасия

Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб. д.7-9,
Санкт-Петербург, Россия, 199034, agrad74@mail.ru

57. Кадцын Евгений

Институт химической кинетики и горения СО РАН, ул. Институтская 3,
Новосибирск, Россия, 630090, kadtseen@mail.ru

58. Макарова Алена

Институт молекулярной генетики РАН, площадь академика И.В. Курчатова, д. 2,
Москва, Россия, 123182.

59. Кнорре Дмитрий

НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ, ул. Ленинские Горы, 1, стр. 40, Москва,
Россия, 119992, knorre@belozersky.msu.ru

60. Кириллова Юлия

Институт тонких химических технологий, Московский технологический
университет, пр. Вернадского 86, Москва, Россия, 119571, pna-mitht@yandex.ru

61. Коваль Ольга

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр.Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, o.koval@niboch.nsc.ru

62. Косова Анастасия

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, anastasia.kosova@ya.ru

63. Кузнецов Никита

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, nikita.kuznetsov@niboch.nsc.ru

64. Кулемзин Сергей

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, пр. ак. Лаврентьева 8/2,
Новосибирск, Россия, 630090, skulemzin@mcb.nsc.ru

65. Кульбачинский Андрей

Институт молекулярной генетики РАН, площадь академика И.В. Курчатова,
д. 2, Москва, Россия, 123182, akulb@img.ras.ru

66. Курусь Нина

Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова СО РАН,
пр. Лаврентьева 13, Новосибирск, Россия, 630090, kurus@isp.nsc.ru

67. Кутузов Михаил

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, kutuzov.mm@mail.ru

68. Лаврик Ольга

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, lavrik@niboch.nsc.ru

69. Левина Ася

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, levina@niboch.nsc.ru

70. Лейченко Елена

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова,
пр. 100 лет Владивостоку, 159, Владивосток, Россия, 690022, 969844@gmail.com

71. Лукина Мария

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, lukina@niboch.nsc.ru

72. Лукьянчикова Наталья

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, lunata9@yandex.ru

73. Малыгин Алексей

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, malygin@niboch.nsc.ru

74. Маслов Михаил

Институт тонких химических технологий, Московский технологический
университет, пр. Вернадского 86, Москва, Россия, 119571, mamaslov@mail.ru

75. Мирошникова Анастасия

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, miffka1992@niboch.nsc.ru

76. Монахова Майя

НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ, ул. Ленинские Горы, 1, стр. 40, Москва,
Россия, 119992, monakhovamv@gmail.com

77. Моор Нина

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, moor@niboch.nsc.ru

78. Лимборская Светлана

Институт молекулярной генетики РАН, площадь академика И.В. Курчатова,
д. 2, Москва, Россия, 123182, limbor@img.ras.ru

79. Назаркина Жанна

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, zha_naz@niboch.nsc.ru

80. Невинский Георгий

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, nevinsky@niboch.nsc.ru

81. Немудрая Анна

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, ann.vaskova@gmail.com

82. Носенко Татьяна

Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет
информационных технологий, Кронверский проспект 49, Санкт-Петербург,
Россия, tata-noastra@yandex.ru

83. Петрова Дарья

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, dashapetr21@gmail.com

84. Петрусева Ирина

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, irapetru@niboch.nsc.ru

85. Петушков Иван

МГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, ГСП-1, Москва, Россия,
119991, telomer1@rambler.ru

86. Попов Александр

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, aropov@niboch.nsc.ru

87. Аралов Андрей

Институт биоорганической химии им. ак. М.М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова,
ул. Миклухо-Маклая, дом 16/10, ГСП-7, Москва, Россия, Baruh238@mail.ru

88. Прохоренко Игорь

Институт биоорганической химии им. ак. М.М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова,
ул. Миклухо-Маклая, дом 16/10, ГСП-7, Москва, Россия, prig67@mail.ru

89. Разин Сергей

Институт биологии гена РАН, ул. Вавилова, д. 34/5, Москва, Россия,
sergey.v.razin@usa.net

90. Речкунова Надежда

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, nadyarec@niboch.nsc.ru

91. Рябинин Владимир

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, ryabinin@niboch.nsc.ru

92. Савельева Анна

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, savelyevaav@niboch.nsc.ru

93. Седых Сергей

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, sirozha@gmail.com

94. Соболева Светлана

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, soboleva@niboch.nsc.ru

95. Тутанов Олег

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090

96. Степанова Алёна

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, o.lebedeva@gmail.com

97. Брылёв Владимир

Институт биоорганической химии им. ак. М.М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова,
ул. Миклухо-Маклая, дом 16/10, ГСП-7, Москва, Россия, 117997, v.brylev@yandex.ru

98. Таранин Александр

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, пр. ак. Лаврентьева 8/2,
Новосибирск, Россия, 630090, taranin@mcb.nsc.ru

99. Тамкович Светлана

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, s.tamk@niboch.nsc.ru

100. Тюгашев Тимофей

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, tyugashev@niboch.nsc.ru

101. Тюрин Антон

НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе, ул. Большая Пироговская,
д. 11, Москва, Россия, 119435, anton2rin@gmail.com

102. Челобанов Борис

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, boris.p.chelobanov@gmail.com

103. Черноносков Александр

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, sandy@niboch.nsc.ru

104. Лактионов Павел

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, lakt@niboch.nsc.ru

105. Коршун Владимир

Институт биоорганической химии им. ак. М.М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова,
ул. Миклухо-Маклая, дом 16/10, ГСП-7, Москва, Россия, v-korshun@yandex.ru

106. Шелепова Екатерина

Институт химической кинетики и горения СО РАН, ул. Институтская 3,
Новосибирск, Россия, 630090, ekaterinashelepova1@gmail.com

107. Абрамова Татьяна

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, abramova@niboch.nsc.ru

108. Шерстюк Юлия

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, tarasenko@niboch.nsc.ru

109. Шлихт Анатолий

Дальневосточный федеральный университет, Кампус ДВФУ, поселок Аякс - 10,
о. Русский, Владивосток, Россия, 690922

110. Щелкунов Сергей

Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»,
р.п.Кольцово, Новосибирская область, Россия, 630559, snshchel@rambler.ru

111. Юдкина Анна

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, yudkinaanya@gmail.com

112. Яковлев Данила

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, yakovlevd@niboch.nsc.ru

113. Давыдова Анна

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, anna.davydova@niboch.nsc.ru

114. Marina Zenkova

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS,
Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, marzen@niboch.nsc.ru

115. Elena Chernolovskaya

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS,
Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, elena_ch@niboch.nsc.ru

116. Dmitryi Pyshnyi

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS,
Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, pyshnyi@niboch.nsc.ru

117. Inna Pyshnaya

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS,
Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, pyshnaya@niboch.nsc.ru

118. Georgyi Shevelev

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS,
Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, shevelev@niboch.nsc.ru

119. Maxim Kupryushkin

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS,
Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, kuprummax@niboch.nsc.ru

120. Коваль Владимир

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, koval@niboch.nsc.ru

121. Донцова Ольга

НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ, ул. Ленинские Горы, 1, стр. 40,
Москва, Россия, 119992, dontsova@belozersky.msu.ru

122. Готтих Марина

НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ, ул. Ленинские Горы, 1, стр. 40,
Москва, Россия, 119992,

123. Grigoryi Stepanov

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS,
Lavrentieva ave. 8, Novosibirsk, Russia, 630090, stepanovga@niboch.nsc.ru

124. Журавлев Евгений

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090.

125. Тикунова Нина

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, tikunova@niboch.nsc.ru

126. Krol Alan

Institute of Molecular and Cellular Biology, CNRS University of Strasbourg,
Strasbourg, France.

127. Гончарова Елена

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, egn@niboch.nsc.ru

128. Власов Валентин

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, vvv@niboch.nsc.ru

129. Кочетков Сергей

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, ул. Вавилова,
д. 32., ГСП-1, Москва, Россия, 119991, kochet@eimb.ru

130. Габибов Александр

Институт биоорганической химии им. ак. М.М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова,
ул. Миклухо-Маклая, дом 16/10, ГСП-7, Москва, Россия, 117997, gabibov@mx.ibch.ru

131. Сенькова Александра

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, alsenko@mail.ru

132. Логашенко Евгения

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, evg_log@niboch.nsc.ru

133. Недоспасов Сергей

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, ул. Вавилова,
д. 32., ГСП-1, Москва, Россия, 119991, sergei.nedospasov@gmail.com

134. Григорьева Алина

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, a.e.grigoreva@gmail.com

135. Khan Salman

Integral University, Lucknow, India, mskhan@iul.ac.in

136. Khan Mohd Sajid

Integral University, Lucknow, India, research.sajid@gmail.com

137. Кнорре Дмитрий

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, knorre@niboch.nsc.ru

138. Карпова Галина

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, karpova@niboch.nsc.ru

139. Федорова Ольга

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
пр. Лаврентьева 8, Новосибирск, Россия, 630090, fedorova@nibosh.nsc.ru

МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
"ХИМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ"

ПОСВЯЩЕННАЯ 90-ЛЕТИЮ АКАДЕМИКА Д. Г. КНОРРЕ
НОВОСИБИРСК, 24-28 ИЮЛЯ 2016 Г.

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ

Компьютерная верстка Гладких Д. В.
Оформление Гладких Д. В., Патутина О. А.
В оформлении обложки использованы фотографии Гладких Д. В., Патутиной О. А.
и из личного архива Кнорре Д. Г.

Подписано в печать 11.07.2016. Формат 70x100/16. Гарнитура PT Serif.
Печать офсетная. Усл. печ. л. 29,75. Тираж: 200 экз. Заказ № 469

Отпечатано в ООО "Офсет-ТМ"
630117, Новосибирск, ул. Арбузова, 4/27
т.: (383) 332-72-12, e-mail: ofsetn@yandex.ru