

**Н.М. Мельникова, Ю.Д. Диордиенко,  
М.И. Сулацкий, А.И. Сулацкая**  
**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ  
АМИЛОИДНЫХ ФИБРИЛЛ НА ОСНОВЕ  
БЕТА-АМИЛОИДОВ С РАЗЛИЧНОЙ ДЛИНОЙ  
АМИНОКИСЛОТНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ**

*Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия*

**N.M. Melnikova, Yu.D. Diordienko,  
M.I. Sulatsky, A.I. Sulatskaya**

**A COMPARATIVE STUDY OF AMYLOID  
FIBRILS FORMED FROM BETA-AMYLOIDS  
WITH DIFFERENT LENGTH OF AMINO ACID  
SEQUENCE**

*Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences,  
Saint-Petersburg, Russia*

[melnikova07nm@gmail.com](mailto:melnikova07nm@gmail.com)

Накопление в организме человека упорядоченных белковых агрегатов, амилоидных фибрилл, может являться маркером ряда тяжелых нейродегенеративных заболеваний. В частности, бета-амилоид, состоящий из 42 аминокислотных остатков (A $\beta$ 42), является основным компонентом амилоидных бляшек, накапливающихся в организме пациентов с болезнью Альцгеймера. Однако существуют и другие варианты этого пептида, образующиеся в норме из трансмембранного белка—предшественника бета-амилоида (APP). Одним из них является пептид, состоящий из 40 аминокислотных остатков и не имеющий патогенных свойств (A $\beta$ 40). Целью настоящей работы стало изучение полиморфизма амилоидных фибрилл на основе A $\beta$ 40 и A $\beta$ 42, для чего были проанализированы их морфология, собственные фотофизические характеристики, вторичная структура, а также их взаимодействие с амилоид-специфическим флуоресцентным зондом тиофлавином Т (ThT).

С использованием литературных данных была подобрана эффективная методика получения амилоидных фибрилл, основанная на инкубировании бета-амилоидов в 50% гексафторизопропанол (HFIP) с последующим удалением растворителя из образца. Для изучения полученных амилоидных фибрилл был использован широкий спектр физико-химических методов, таких как электронная микроскопия, КД-спектроскопия, а также абсорбционная и флуоресцентная спектроскопия, которые, в частности, были применены для исследования растворов фибрилл с ThT, подготовленных методом равновесного микродиализа.

Показано, что в процессе фибриллогенеза происходит изменение структуры бета-амилоидов с увеличением содержания бета-складчатых областей. Было сделано заключение о более высоком содержании бета-листов в зрелых амилоидных фибриллах на основе A $\beta$ 42 по сравнению с фибриллами на основе A $\beta$ 40. Оказалось, что фибриллы на основе A $\beta$ 40 образуют отдельные тонкие нити, практически не взаимодействующие между собой, а волокна фибрилл на основе A $\beta$ 42 в тех же условиях имеют склонность к образованию кластеров. Показано, что в фибриллах на основе A $\beta$ 40 существует один тип связывания ThT, а в фибриллах на основе A $\beta$ 42 существует еще одна мода связывания красителя, что обусловлено способностью этих фибриллярных волокон к кластеризации.

В результате выполнения работы было сделано заключение о том, что даже небольшие изменения в аминокислотной последовательности белков и пептидов (как

в случае A $\beta$ 40 и A $\beta$ 42) могут приводить к полиморфизму амилоидных фибрилл на их основе. При этом анализ полученных результатов и литературных данных показал, что белки с различной аминокислотной последовательностью могут образовывать сходные по физико-химическим характеристикам амилоидные фибриллы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Стипендии Президента РФ СП-841.2018.4 и гранта РФФИ № 16-04-01614.

**Е.Д. Милешина<sup>1,2</sup>, О.В. Серова<sup>1</sup>,  
А.С. Горященко<sup>1</sup>, А.А. Ганцова<sup>1</sup>,  
А.А. Можяев<sup>1</sup>, И.Е. Деев<sup>1</sup>, А.Г. Петренко<sup>1</sup>**

**ПОЛУЧЕНИЕ И ИММУНОХИМИЧЕСКАЯ  
ХАРАКТЕРИСТИКА ПОЛИКЛОНАЛЬНЫХ  
АНТИТЕЛ К РЕЦЕПТОРНОЙ ТИРОЗИНКИНАЗЕ  
IRR**

*<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное  
учреждение науки Институт биоорганической  
химии им. академиков М.М. Шемякина  
и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия*

*<sup>2</sup> Российский химико-технологический университет  
имени Д.И. Менделеева, Москва, Россия*

**E.D. Mileshina<sup>1,2</sup>, O.V. Serova<sup>1</sup>,  
A.S. Goryashchenko<sup>1</sup>, A.A. Gantsova<sup>1</sup>,  
A.A. Mozhaev<sup>1</sup>, I.E. Deev<sup>1</sup>, A.G. Petrenko<sup>1</sup>**

**OBTAINING AND IMMUNOCHEMICAL  
CHARACTERIZATION OF POLYCLONAL  
ANTIBODIES TO IRR RECEPTOR TYROSINE  
KINASE**

*<sup>1</sup> Federal State Budgetary Institution of Science  
Institute of Bioorganic Chemistry named after  
Academicians M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov  
RAS, Moscow, Russia*

*<sup>2</sup> D.I. Mendeleev Russian University of Chemical  
Technology, Moscow, Russia*

[e\\_mileshina@mail.ru](mailto:e_mileshina@mail.ru)

Рецептор, подобный инсулиновому рецептору IRR (insulin receptor-related receptor) принадлежит к подсемейству инсулиновых рецепторов [1]. Нами впервые было показано, что IRR является единственной известной на сегодняшний день рецепторной тирозинкиназой — сенсором внеклеточной щелочной среды и участвует в регуляции кислотно-щелочного равновесия в организме. Данный рецептор активируется при защелачивании внеклеточной среды выше pH 7.9, имеет точку 50% эффекта примерно pH 8.5 и выходит на насыщение при pH свыше 9.0. Активация IRR приводит к фосфорилированию каскадных внутриклеточных белков IRS-1 и АКТ, и приводит к перестройке клеточного цитоскелета [2].

Цель настоящей работы — получить и охарактеризовать поликлональные антитела (ПА) к IRR для изучения его структуры и функций в физиологических экспериментах.

Для получения антител получена плазмида pET28a-hIRR-C со всеми необходимыми элементами для успешной экспрессии C-концевой участка IRR в клетках *E. coli*. Разработана система экспрессии и очистки целевого белка. Проведена иммунизация кроликов антигеном до достижения стойкого иммунного ответа.

В результате нами получена сыворотка крови с ПА против C-концевого участка IRR. Антитела

охарактеризованы иммунохимическими методами: вестерн блот, иммуноцитохимия и иммунопреципитация. Оценка антител показала, что антитела а-с-hIRR-k1 способны специфично связываться с IRR человека и мыши, а антитела а-с-hIRR-k2 специфичны ко всем рецепторам из семейства рецептора инсулина.

Получение антител к IRR для проведения структурно-функциональных исследований, представляет особый интерес для изучения фундаментальных основ механизма щелочной чувствительности, а также для развития в будущем новых терапевтических подходов, созданию лекарств для лечения заболеваний, связанных с нарушением кислотно-щелочного равновесия и некоторых форм рака.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научных проектов № 20-04-00959, № 19-34-51034, № 19-04-00815, № 17-00-00486, № 17-00-00489 (К), № 19-34-90177, № 19-04-01042.

**А.А. Нижников**

### **БИОЛОГИЧЕСКИЕ РОЛИ И ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ АМИЛОИДОГЕНЕЗА У ПРОКАРИОТ И ЭУКАРИОТ**

*Лаборатория протеомики надорганизменных систем, Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии (ФГБНУ ВНИИСХМ), Санкт-Петербург, г. Пушкин Санкт-Петербургский государственный университет (СПбГУ), Санкт-Петербург*

**A.A. Nizhnikov**

### **BIOLOGICAL ROLES AND PATHOLOGICAL CONSEQUENCES OF AMYLOIDOGENESIS IN PROKARYOTES AND EUKARYOTES**

*Laboratory of Supraorganism Systems Proteomics, All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Saint-Petersburg, Pushkin, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg*

lab7@arriam.ru

Амилоидами называют фибриллярные белковые агрегаты, обладающие уникальной упорядоченной пространственной структурой, называемой «кросс-бета». На протяжении длительного времени эти фибриллы изучали в связи с их патологической ролью. Так, заболевания, вызываемые патологической амилоидной агрегацией различных белков, называемые амилоидозами, известны начиная с XVII века, однако их белковая природа была установлена значительно позднее. На сегодняшний день известно около пятидесяти амилоидозов, все они неизлечимы, могут быть первичными или вторичными по характеру возникновения, поражать отдельные органы или же иметь системный характер. Особую группу представляют нейродегенеративные заболевания, вызываемые патологической агрегацией белков, среди которых есть и инфекционные, вызываемые особой группой амилоидов — прионами. Начиная с 2000 года происходит переосмысление биологических ролей амилоидов, поскольку было выявлено значительное число белков, которые образуют амилоиды в норме, и эти амилоиды выполняют жизненно-важные биологические функции. Подобные амилоиды, называемые функциональными, были обнаружены у архей, бактерий и эукариот. В настоящее время число идентифицированных у различных организмов функциональных амилоидов превысило число

патологических. Репертуар их функций крайне разнообразен, так у бактерий функциональные амилоиды вовлечены в формирование биопленок, запасание токсинов, образование белковых оболочек, обеспечение преодоления поверхностного натяжения и другие функции. Повидимому, роль амилоидов в вирулентности прокариот и взаимодействиях «патоген-хозяин» и «симбионт-хозяин» крайне широка, и в настоящий момент идентифицированные амилоиды, вовлеченные в вирулентность бактерий, представляют собой лишь верхушку айсберга. Вместе с тем, уже сейчас очевидно, что бактериальные амилоиды являются «темной», малоисследованной стороной мира патологических для человека амилоидов, так как, по данным Всемирной организации здравоохранения, до 80 процентов болезнетворных бактериальных штаммов образуют биопленки, ассоциированные с вирулентностью и патологическими свойствами этих микроорганизмов, а биопленки, в свою очередь, в качестве ключевого структурного элемента содержат амилоидные фибриллы. В настоящем докладе будет проведен обзор структурных особенностей амилоидных фибрилл, разнообразия их патологических свойств и биологических функций у прокариот и эукариот, освещены последние данные, полученные нашим исследовательским коллективом, совместно с ИЦ РАН, о функциональных амилоидах симбиотических бактерий и роли амилоидогенеза в запасании белка семян у наземных растений.

Исследование амилоидных белков растений и симбиотических бактерий выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда 17-16-01100, изучение прионов дрожжей проведено при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований 16-34-60153.

**К.Г. Павлова<sup>1</sup>, Н.Ю. Шилиягина<sup>1</sup>,  
А.Б. Воловецкий<sup>1</sup>, А.Б. Костюк<sup>1</sup>, А.Г. Орлова<sup>2</sup>**

### **ОЦЕНКА УРОВНЯ ОКСИГЕНАЦИИ НОВООБРАЗОВАНИЙ МЕТОДАМИ ОПТИЧЕСКОЙ ДИФфуЗИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ И ИММУНОГИСТОХИМИИ**

<sup>1</sup> *Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород*

<sup>2</sup> *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики Российской академии наук», Нижний Новгород*

**K.G. Pavlova<sup>1</sup>, N.Y. Shilyagina<sup>1</sup>, A.B. Volovetsky<sup>1</sup>,  
A.B. Kostyuk<sup>1</sup>, A.G. Orlova<sup>2</sup>**

### **ESTIMATION OF THE OXYGENATION LEVEL OF MALIGNANT NEOPLASMS BY THE METHODS OF OPTICAL DIFFUSION SPECTROSCOPY AND IMMUNOGISTOCHEMISTRY**

<sup>1</sup> *N.I. Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 603000 Gagarin Avenue, 23, Nizhny Novgorod, Russia*

<sup>2</sup> *Federal Research Center Institute of Applied Physics Russian Academy of Sciences, 46 Ulyanov Str., 603950 Nizhny Novgorod, Russia*

780pavlova@gmail.com