

СТУДЕНЧЕСКИЙ БИОХИМИЧЕСКИЙ ФОРУМ

17 декабря
2018 года

материалы конференции



• Биомолекула

Москва



МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
Биологический факультет
Кафедра биохимии

I межвузовская студенческая конференция
СТУДЕНЧЕСКИЙ БИОХИМИЧЕСКИЙ ФОРУМ – 2018

17 декабря 2018 г.

Материалы конференции
(электронная версия)

Москва – 2018

УДК 577
ББК 28.072

Оргкомитет благодарит руководство биологического факультета МГУ за помощь в проведении конференции и издании настоящего сборника

Оргкомитет конференции

Н.Б. Гусев (председатель оргкомитета), А.Г. Катруха (заместитель председателя оргкомитета), Д.В. Серебряная (ответственный секретарь), Е.П. Альтшулер, Л.К. Муранова, О.И. Клычников, В.М. Шатов, Л.Р. Ибнеева

СТУДЕНЧЕСКИЙ БИОХИМИЧЕСКИЙ ФОРУМ – 2018: I межвузовская студенческая конференция: 17 декабря 2018 г., Москва, МГУ имени М.В. Ломоносова, биологический факультет: Материалы конференции / Отв. ред. Н.Б. Гусев. Сост. Е.П. Альтшулер. - М.: Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, 2018. - 76 с.

ISBN 978-5-9500298-4-4

УДК 577
ББК 28.072
ISBN 978-5-9500298-4-4

Материалы и методы. В работе использовались методы молекулярной динамики (в рамках классических силовых полей) и термодинамического интегрирования для нахождения свободных энергий депротонирования аминокислотных остатков, непосредственно участвующих в процессе переноса протона. Расчеты проводились на структурах, полученных на рентгеновском лазере [1].

Результаты. Были получены значения энергий депротонирования для четырех аминокислотных остатков (Asp 85, Asp 96, Glu 194, Glu 204), участвующих в процессе переноса протона, на разных временах после фотовозбуждения (от 0 до 1,75 мс), что соответствует стадиям фотоцикла от O до M2. Из этих данных рассчитана свободная энергия переноса протона между соседними звеньями в цепи переноса протона, а также предсказано наиболее вероятное положение протона на разных этапах фотоцикла.

Выводы. Полученные результаты дают возможность проследить перемещение протона в ходе фотоцикла бактериородопсина и оценить эффективность переноса на каждом этапе.

Работа поддержана грантом РФФИ 17-00-00166 и выполнена с использованием оборудования Центра коллективного пользования сверхвысокопроизводительными вычислительными ресурсами МГУ имени М.В. Ломоносова.

Список литературы.

1. E. Nango *et al.*, *Science*. **354**, 1552–1557 (2016).

Б5. Роль нового трансмембранного модулятора пуриnergического рецептора P2Y1 и рецепторов факторов роста фибробластов – c-Answer в регенерации и развитии мозга у холоднокровных

Д.Д. Короткова^{1,2} (ddkorotkova@gmail.com), А.С. Иванова¹, Н.Ю. Мартынова¹, В.А. Любецкий³, А.В. Селиверстов³, А.М. Нестеренко^{1,4}, М.Б. Терёшина¹, А.Г. Зарайский¹

¹Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

²МГУ имени М.В. Ломоносова

³Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН

⁴Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н.

Введение. Ген *c-Answer* был идентифицирован нами совместно с лабораторией математических моделей в биологии (ИППИ РАН) в ходе биоинформатического скрининга геномов представителей всех классов позвоночных, направленного на поиск генов, исчезнувших в эволюции на этапе перехода к теплокровным. Ранее нами были впервые описаны физиологические функции *c-Answer* и установлено его участие в регенерации и развитии мозга шпорцевой лягушки посредством взаимодействия с рецептором пуриnergического сигнального пути - P2Y1 и рецепторами факторов роста фибробластов.

Материалы и методы. Модельный объект – шпорцевая лягушка. Генный нокаут с помощью системы CRISPR/Cas9; нокдаун с помощью антисмысловых морфолиновых олигонуклеотидов (МО), Co-IP с последующим Вестерн блоттингом, ко-инъекции синтетической РНК с Ca²⁺-флуоресцентным сенсором или люциферазным репортером, активируемым MAP/Erk сигнальным путем.

Результаты. В ходе экспериментов с применением репортерных конструкций было установлено, что *c-Answer* оказывает стимулирующее действие на пуриnergический и Fgf сигнальные пути. Взаимодействие *c-Answer* с рецепторами P2Y1 и FGFRs в разной степени осуществляется всеми доменами белка, однако основную роль играет трансмембранный. Морфологические эффекты, полученные в результате инъекций делеционного мутанта *c-Answer*, содержащего внутриклеточную и трансмембранную части, совпадают с эффектами подавления функции *c-Answer* с помощью MO или CRISPR/Cas9 (уменьшение или аномалии головных структур, ингибирование регенерации конечностей). Эффекты от инъекций мутанта, содержащего внеклеточную и трансмембранную части - противоположны и совпадают с эффектами оверэкспрессии *c-Answer* дикого типа.

Выводы. Трансмембранный белок *c-Answer* регулирует регенерацию и развитие мозга холоднокровных путем стимуляции пуриnergического и Fgf сигнальных путей. Исчезновение *c-Answer* в эволюции у предков теплокровных животных могло быть одной из причин потери способности к регенерации конечностей и могло привести к созданию условий для прогрессивного развития головного мозга в результате изменения активности данных каскадов.

Б6. Регуляция пиридоксалькиназы человека тиаминтрифосфатом

*Д.В. Крюков (dmvlkry@belozersky.msu.ru), В.А. Алешин, В.И. Буник
НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского, отдел биокинетики, группа биохимической инженерии*

Введение. Пиридоксалькиназа (ПЛК) катализирует образование пиридоксаль-5'-фосфата (ПДФ) из пиридоксаля (ПЛ, витамин B6) и АТФ, участвуя в регуляции активности многочисленных ПДФ-зависимых ферментов, вовлечённых, в частности, в метаболизм аминокислот, синтез нейротрансмиттеров, гликогенолиз. Тиамин (витамин B1) в виде кофермента тиаминдифосфата (ТДФ) необходим для метаболизма углеводов, жиров и аминокислот. Недавние исследования показали ингибирование ПЛК тиамином конкурентно по отношению к ПЛ и ТДФ конкурентно по отношению к АТФ [1]. Целью данной работы является изучение регуляции рекомбинантной человеческой ПЛК некоферментной формой тиаминтрифосфатом (ТТФ).

Материалы и методы. Рекомбинантная ПЛК человека любезно предоставлена М. ДиСальво (Университет Рима, Италия) [2]. ТТФ синтезирован по опубликованному методу [3]. Кинетический анализ влияния тиаминтрифосфата и его фосфатов на скорость ПЛК реакции проведён в средах, содержащих 0,07 мМ Zn^{2+} (Na_2ATP ; KH_2PO_4 pH=6) или Mg^{2+} ($MgATP$; NaBES pH=7.3). Скорость реакции измеряли по поглощению продукта реакции ПЛК с максимумом при длине волны 388 нм.

Результаты. Насыщение ПЛК АТФ аппроксимируется двухцентральной моделью связывания АТФ лучше, чем моделью Михаэлиса-Ментен. Исследование в системе с 0,07 мМ Zn^{2+} показало, что ТТФ (0.1-0.5 мМ) активировал ПЛК при концентрации АТФ до 0.4 мМ. В среде с Mg^{2+} ($MgATP$), напротив, ТТФ (0.1-0.5 мМ) ингибировал при концентрации АТФ 0.2 - 0.4 мМ и активировал ПЛК при АТФ 1.8 мМ. Сравнение действия на ПЛК тиаминтрифосфата и его моно-, ди- и трифосфатов показывает, что активация ПЛК ТТФ связана с наличием трифосфатной группировки.