

---

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
РОССИЙСКИЙ ФОНД ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ  
РОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО БИОХИМИКОВ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ  
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ ИМ. АКАДЕМИКОВ  
М.М. ШЕМЯКИНА И Ю.А. ОВЧИННИКОВА РАН

---

# **НАУЧНЫЕ ТРУДЫ**

## **ОБЪЕДИНЁННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ**

**МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ  
ПО БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ  
«XII ЧТЕНИЯ ПАМЯТИ АКАДЕМИКА  
ЮРИЯ АНАТОЛЬЕВИЧА ОВЧИННИКОВА»**

**VIII РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ  
«БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ»**

*Под редакцией  
В.Т. Иванова, А.Г. Габимова*

Москва, Россия  
18–22 сентября 2017

УДК 57  
ББК 28.4я43  
Д23

Под редакцией  
академика В.Т. Иванова и академика А.Г. Габиева

**Д23 МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ  
ПО БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ «XII ЧТЕНИЯ ПАМЯТИ  
АКАДЕМИКА ЮРИЯ АНАТОЛЬЕВИЧА ОВЧИННИКОВА»  
И VIII РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ «БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ»  
(Москва, ИБХ РАН, 18–22 сентября 2017. – М. : Издательство «Перо»,  
2017. – 192 с.**

ISBN 978-5-906988-33-1

---

Сборник научных трудов включает материалы актовых и пленарных лекций, симпозиальных докладов, выступлений на заседаниях круглых столов и стендовых докладов, представленных на Международной научной конференции по биоорганической химии «XII чтения памяти академика Юрия Анатольевича Овчинникова» и VIII Российском симпозиуме «Белки и пептиды», состоявшихся в рамках единого научного форума Москве 18–22 сентября 2017 года.

Тематика представленных докладов охватывает актуальные разделы биоорганической химии, биотехнологии, молекулярной биологии и смежных дисциплин, в том числе:

- Поиск и выделение новых природных пептидов и белков. Пептидомика. Протеомика
- Биологические функции и механизмы действия пептидов и белков
- Пептидный синтез. Белковая инженерия
- Физико-химические методы исследования структуры пептидов и белков. Взаимосвязь «структура – функция»
- Химия и биология ферментов
- Инновационные лекарственные средства на основе пептидов и белков
- Биотехнология
- Биоинженерия растений
- Ионные каналы и рецепторы нервной системы: структура, физиология и болезни

Книга рассчитана не только на специалистов, работающих в разных областях биомедицинских наук, но и на студентов, аспирантов, преподавателей и научных работников, интересующихся проблемами наук о жизни.

---

УДК 57  
ББК 28.4я43  
© Коллектив авторов, 2017

ISBN 978-5-906988-33-1



стует расстоянию между активными центрами в каталитически активном тетрамере Dnmt3a. Был создан ДНК-субстрат для тестирования активности Dnmt3a с двумя CpG на указанном расстоянии. В обе последовательности CpG предварительно ввели по одной метильной группе в противоположные цепи в соответствии с необходимым для метилирования расположением цитозин-мишеней в комплексе Dnmt3a с ДНК. МЗ-эндонуклеаза KfoI может иметь лишь ограниченное применение для определения активности Dnmt3a ввиду неполного расщепления метилированного субстрата. В отличие от традиционных методов определения активности МТаз, основанных на использовании радиоактивно меченного S-аденозил-L-метионина, данный метод является надежным, простым в исполнении и недорогим. В перспективе имеется принципиальная возможность одновременного использования МТазы и эндонуклеазы, что может быть осуществлено в ходе дальнейшей оптимизации метода. *Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-01087.*

#### Литература

1. Землянская Е.В., Дегтярев С.Х. 2013. Субстратная специфичность и свойства метилзависимых сайт-специфических ДНК-эндонуклеаз. Молекулярная биология. 47, 900-913.

### РЕКОМБИНАНТНАЯ DPP 4 *TENEbrio MOLITOR*: ПОЛУЧЕНИЕ, СВОЙСТВА И СПОСОБНОСТЬ ГИДРОЛИЗОВАТЬ ТОКСИЧЕСКИЕ ПЕПТИДЫ ГЛИАДИНОВ

**В.Ф. Терещенкова<sup>1</sup>, Е.В. Клячко<sup>2</sup>, С.В. Беневоленский<sup>2</sup>, М.А. Белозерский<sup>3</sup>, Я.Е. Дунаевский<sup>3</sup>, И.Ю. Филиппова<sup>1</sup>, Е.Н. Элпидина<sup>3</sup>**  
<sup>1</sup>Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова; <sup>2</sup>Институт биохимии имени А.Н. Баха РАН; <sup>3</sup>НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*Tenebrio molitor* – вредитель запасов зерновых культур. Его основными пищевыми белками являются глиадины – главные запасные белки семян пшеницы. В состав глиадинов входят до 30% остатков пролина и до 50% остатков глутамина. Это обуславливает наличие пролин-специфичных пептидаз (PSP) в комплексе пищеварительных ферментов *T. molitor*. Среди них главной пищеварительной PSP является дипептидилпептидаза 4 (DPP 4), которая входит в состав подсемейства S9B сериновых пептидаз по классификации MEROPS. DPP 4 отщепляет Хаа-Pro дипептиды от N-конца пептидной цепи любой длины, тем самым участвуя в деградации и регуляции активности пролин-содержащих белков и пептидов. В экспрессионной системе *Pichia pastoris* нами впервые получен рекомбинантный препарат DPP 4 *T. molitor* (rTmDPP4). Выход белка после очистки с использованием аффинной хроматографии на Ni<sup>2+</sup>-НТА сефарозе составил 44 мг/л. Для очищенного препарата rTmDPP4 изучена электрофоретическая подвижность в нативных и денатурирующих условиях, последовательность фермента подтверждена масс-спектрометрически и совпадает с первичной структурой наиболее высокоэкспрессируемой пищеварительной DPP 4 *T. molitor*. Показано, что оптимум работы фермента находится в области pH 8, интервал pH-стабильности – от 6 до 9. Проведено сравнительное изучение субстратной специфичности rTmDPP4 и рекомбинантной DPP 4 человека. На примере гидролиза дипептидных субстратов общей формулы Хаа-Pro-pNA (Хаа = Arg, Ala, Gly; pNA – остаток *para*-нитроанилина) выявлена предпочтительность rTmDPP4 к Arg-содержащему субстрату, тогда как эффективность расщепления всех исследованных субстратов рекомбинантным ферментом человека одинакова. Впервые обнаружена способность rTmDPP4 гидролизовать фрагменты токсических пептидов глиадинов. С использованием 10-членного пролин- и глутаминсодержащего пептида показана большая эффективность его гидролиза rTmDPP4, чем рекомбинантной DPP 4 человека.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ совместно с Фондом «Национальное интеллектуальное развитие»: 17-34-80158 мол\_эв\_а; грантов РФФИ: 16-34-01012 мол\_а, 15-04-08689-а, 15-03-06675-а; гранта Фонда содействия инновациям (FASIE): УМНИК 8874ГУ/2015 (0018984).*

### НОВЫЙ ИНГИБИТОР ТЕРМОЛИЗИНПОДОБНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕАЗ

**К.Н. Чухонцева, И.С. Лемескина, Д.Р. Сафина, И.В. Демидюк**  
Институт молекулярной генетики РАН, Москва, Россия

Термолизинподобные протеазы – семейство протеолитических ферментов, представители которого широко распространены у эу- и архебактерий, а также встречаются у грибов. Семейство включает две группы. Представители первой близки к термолизину и, по-видимому, выполняют преимущественно трофические функции. Прототипом второй группы является протеализин – металлопротеаза бактерии *Serratia proteamaculans*. Многие микроорганизмы, продуцирующие протеализинподобные протеазы (ППП), являются симбионтами или патогенами растений и животных, некоторые – способны вызывать заболевания человека. Имеющиеся данные указывают на участие ППП во взаимодействии бактерий с высшими организмами, однако биологические функции этих ферментов изучены мало. Нами проведен анализ геномов микроорганизмов, продуцирующих ППП, и обнаружено, что во всех бактериальных геномах за геном ППП следует ген небольшого консервативного гипотетического белка – белка, ассоциированного с протеализином (БАП). Детальный анализ областей геномов, в которых локализованы гены ППП и белков, подобных БАП, показал, что эти гены организованы в оперон. Таким образом, ППП и ассоциированные с ними белки, по-видимому, выполняют общую функцию. Для характеристики БАП нами в клетках *E. coli* получен рекомбинантный белок из *S. proteamaculans* и впервые показано, что БАП является эффективным ингибитором протеализина: константа связывания, определенная с помощью изотермической калориметрии титрования, составляет  $2 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ . Также было установлено, что БАП способен ингибировать термолизин. Кроме того, с использованием метода иммуноблоттинга было продемонстрировано, что в *S. proteamaculans* БАП имеет внутриклеточную локализацию. Таким образом, нами впервые установлено, что гены ППП у бактерий входят в состав оперонов, включающих также гены новых ингибиторов термолизинподобных протеаз. Полученные результаты, по-видимому, указывают на существование неизвестного механизма регуляции активности ППП бактериальной клеткой.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 16-04-01048.*