



Лаборатория компьютерной протеомики

# **Компьютерный анализ связи конформационных пептидов с аллергенностью белков**

**Специальность: 03.01.09 Математическая биология, биоинформатика**

**Докладчик: Брагин Анатолий**

**Научный руководитель: к.б.н., доцент Иванисенко Владимир Александрович**

# Аллергия

Аллергия — это реакции гиперчувствительности, опосредованные иммунологическими механизмами. У большинства больных аллергические проявления ассоциированы с антителами IgE-класса. (Р. С. ФАССАХОВ 2009)

На сегодняшний день в мире от различных аллергических заболеваний страдает более 30% населения (по данным Всемирной Организации Аллергии)

Человек контактирует с белками из множества организмов, в число контактов входят также и белки, полученные искусственным путем, которые активно используются в биотехнологии, пищевой, косметической промышленности и т.д. Многие из белков, попадающие в организм человека могут быть аллергенами. Экспериментально проверить способность вызывать IgE-опосредованные реакции в организме у всех белков невозможно (только в базе данных UniProt содержится более 25 млн. последовательностей белков). В связи с этим разработка компьютерных методов предсказания аллергенности белков является одной из актуальных проблем биоинформатики.

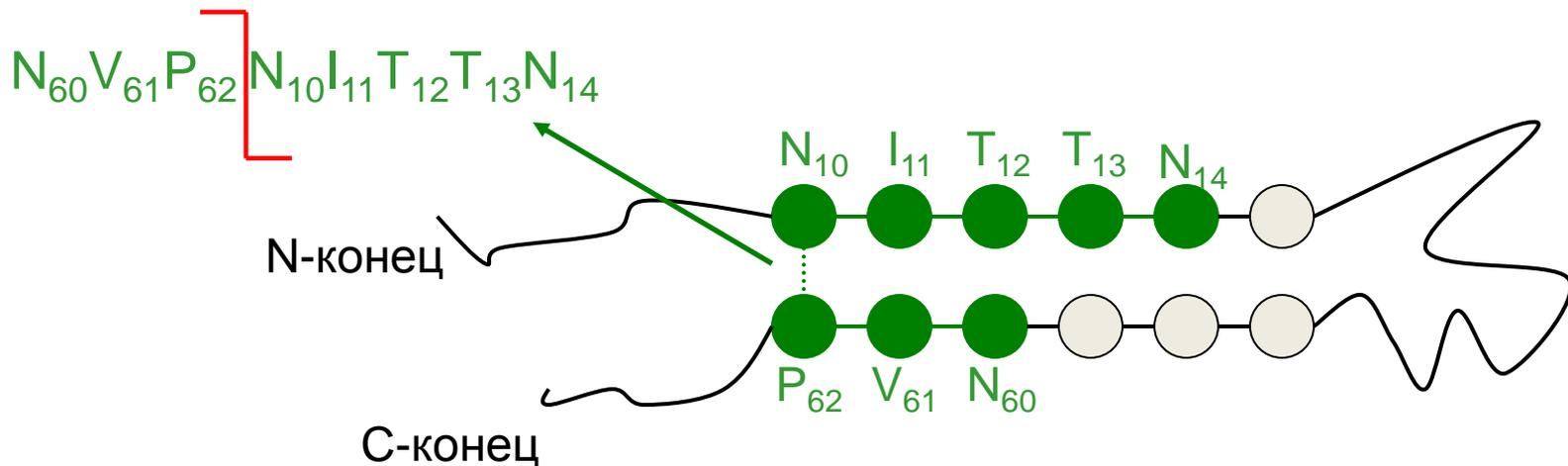
# Методы предсказания аллергенности белков

- Одни из первых компьютерных методы предсказания аллергенности белков появились в конце 90-х.
- Затем Всемирной организацией здравоохранения и Продовольственной и сельскохозяйственной организацией (FAO/WHO) был рекомендован метод предсказания аллергенности белков, основанный на сравнении первичной структуры анализируемого белка с известными белками-аллергенами.
- В 2002-ом году Zorzet с коллегами предложили использовать метод ближайших соседей для классификации белков к группе аллергенов.
- Stadler и Stadler (2003) а также Kong с коллегами (2007) применяли поиск мотивов в аллергенах.
- Björklund с коллегами (2005) предложили использовать показатель сходства, основанный на сравнении пептидов.
- Также широкое применение получили методы машинного обучения, такие как метод опорных векторов (Soeria-Atmadja et al., 2006; Cui et al., 2007; Muh et al., 2009).

Основой для этих методов остается анализ первичной структуры и не учитываются особенности пространственной организации белков.

# Конформационные пептиды в пространственных структурах белков

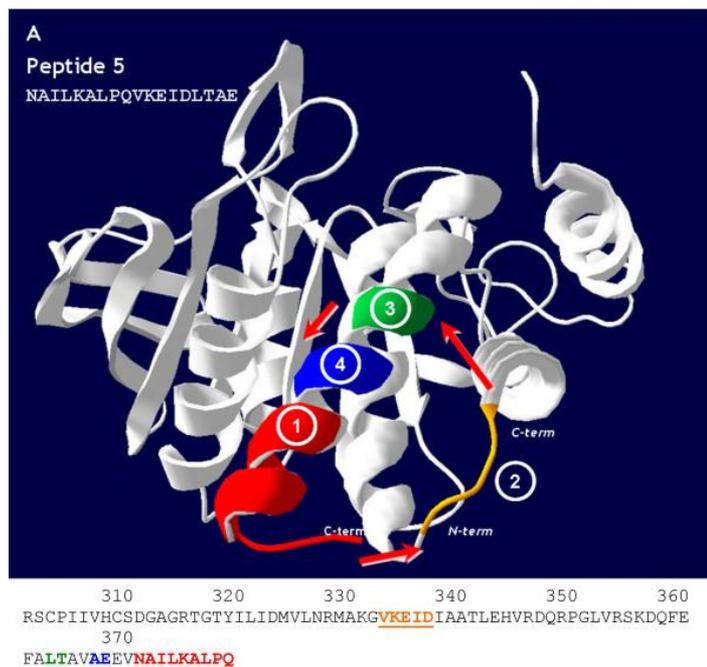
Конформационными (разрывными или топологическими) пептидами в литературе называют линейные цепочки аминокислотных остатков, сближенных в пространственной, но удаленных в первичной структуре белка. Такие пептиды могут функционально и структурно имитировать фрагменты поверхности белков, в том числе функциональные сайты и антигенные детерминанты.



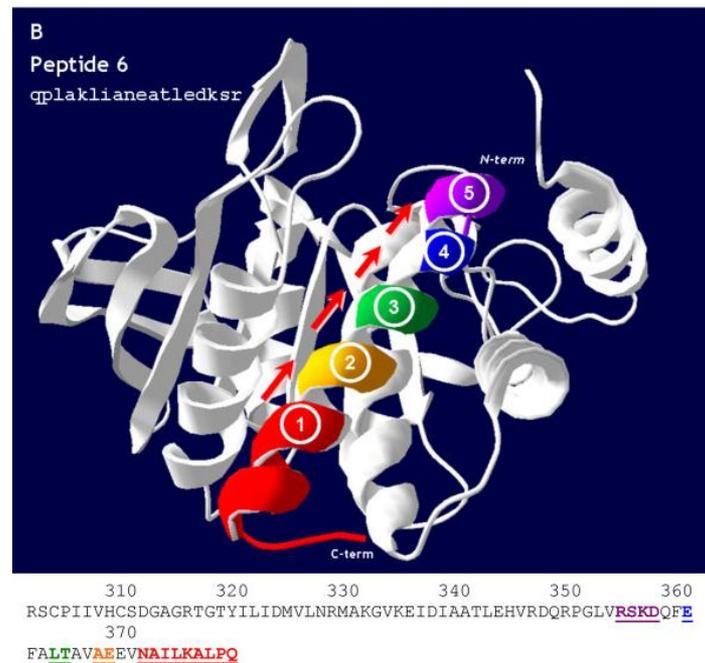
В литературе приведены примеры использования конформационных пептидов в решении задач, таких как картирование B-клеточных эпитопов и поиск пептидов-миметиков.

# Существующие примеры дизайна конформационных пептидов на основе анализа пространственных структур белков

В работе Moreau et al. BMC Bioinformatics 2008 были синтезированы конформационные пептиды, обладающие иммуногенными свойствами белка



**NAILKALPQVKEIDLTAE**



**QPLAKLIANEATLEDKSR**

Пептиды были синтезированы и экспериментально показана их иммуногенность.

# Цель

**Целью исследования являлся поиск взаимосвязи между структурной организацией и аллергенными свойствами белков с использованием представления поверхности их пространственной структуры наборами конформационных пептидов**

# Задачи

- 1) Анализ физико-химических свойств конформационных пептидов аллергенных белков.
- 2) Анализ сходства конформационных и линейных пептидов в белках-аллергенах.
- 3) Разработка метода представления поверхностных участков пространственной структуры белка набором конформационных пептидов.
- 4) Анализ структурной и функциональной близости белков-аллергенов, обладающих сходными конформационными пептидами.
- 5) Разработка метода предсказания аллергенности белков на основе анализа конформационных пептидов.
- 6) Анализ влияния факторов среды обитания микроорганизмов на наличие аллергенных белков в их протеомах.

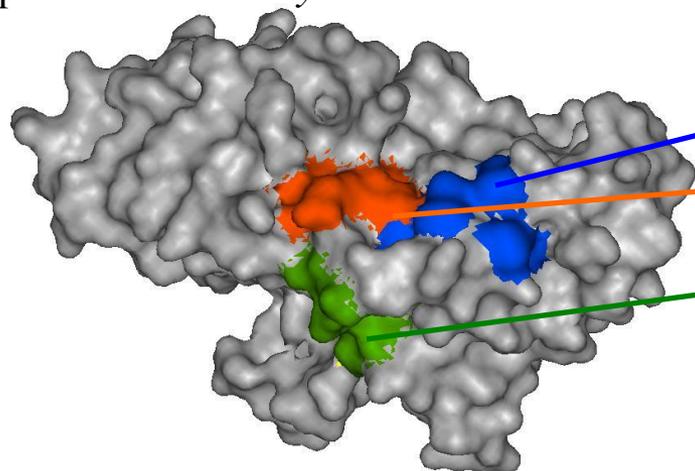
# Метод построения конформационных пептидов, моделирующих поверхность белковой структуры

- 1) 2 аминокислоты включались в конформационный пептид как “связанные” (соседние) в последовательности пептида, если расстояние между их С-альфа атомами в структуре белка было не более 5 ангстрем
- 2) Средняя доступность для растворителя аминокислот конформационного пептида в структуре белка была не менее 50%
- 3) Длина конформационного пептида задавалась 8 аминокислотных остатков

Поверхность аллергена Zea m1  
(PDB id 2HCZ) beta-expansin 1b

Организм: *Zea mays*

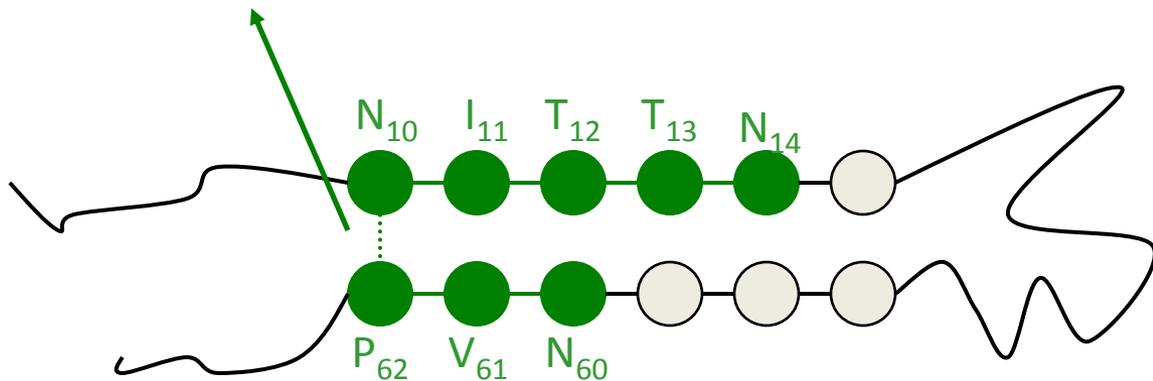
Последовательности конформационных пептидов для  
аллергена Zea m 1



F<sub>135</sub>R<sub>136</sub>R<sub>137</sub>Y<sub>74</sub>E<sub>75</sub>V<sub>,76</sub>R<sub>77</sub>P<sub>88</sub>

S<sub>72</sub>C<sub>73</sub>Y<sub>74</sub>R<sub>137</sub>V<sub>138</sub>R<sub>139</sub>D<sub>170</sub>D<sub>171</sub>

N<sub>60</sub>V<sub>61</sub>P<sub>62</sub>N<sub>10</sub>I<sub>11</sub>T<sub>12</sub>T<sub>13</sub>N<sub>14</sub>



# База данных конформационных и линейных пептидов аллергенных белков LCP



В базе данных LCP содержится информация об 90 тыс. пептидах из аллергенных белков

Расчет веса для каждого пептида по формуле:

$$SA = \ln\left(\frac{Va}{Vh}\right)$$

где  $V_a$  – частота встречаемости пептида в белках SDAP,  $V_h$  – частота встречаемости пептидов в не аллергенных белках. Отрицательные значения SA приравнивались 0.

Использовалась группировка аминокислот:

**Гидрофобные**

**Положительно заряженные**

**Отрицательно заряженные**

**Полярные**

**Малые аминокислоты**

**Цистеин**

**Пролин**

**V, M, I, L, F, Y, W**

**R, K, H**

**E, D**

**S, T, N, Q**

**A, G**

**C**

**P**

# Интерфейс базы данных LCP для поиска при помощи программы BLAST



Function Structure Polymorphism Immunology Evolu

**Function**

- Blast-psd
- HHSearch
- GeneExp
- PDBSite
- PDBSiteScan
- Prosite\_scan
- SP-GOfun
- SubLoc\_procarvotic
- SubLoc\_eucaryotic
- WebProAnalyst

**Structure**

- Modeller
- PDB3DScan

**Polymorphism**

- Polym\_auto
- ProtStability1D-m
- ProtStability3D
- SNP2PDBSite
- SNP2Prosite
- SNP2WebProAnalyst

**Blast**

Enter protein sequence in FASTA format :

```
>3DJF:A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE
MHESVTANIENVKKVAHHIQKLTSSIVPEIGIICGSSGLGKLADGVKDKITIPYTKIPNFPQTSV
VMQGRFHMIEGYSNDTVALPIRVMKLLGVKILMVSNAAGGLNLSKLDGFVILKDHIIPLPGLGNNILV
GPNQAEAFGTRFPALSNAAYDRDLRKLAVQVAEENGFGNLVHQGVYVMNGGPCYETPAECTMLLN
MGCDVVMSTIPEVVIARHCGIQVFAVSLVTNISVLDVESDLKPNHEEVLATGAQRAELMQSWFEKII
EKLPKD
```

Example

Allergenic peptides ▾

Submit Help

Sequences producing significant alignments:

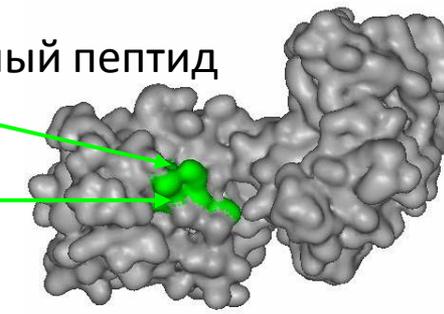
Sequence	Score	E
(bits)	Value	
lcl id:11120 sa:0 conf(Che_a_3_2OPO):ID40,41,38,37,36,35,34,33,...	23	3.3
lcl id:52067 sa:0 line(Hom a 3.0101) line(Lit v 3.0101) line(Pen...	23	4.1
lcl id:20692 sa:0.297854274555723 line(Hom a 3.0101) line(Lit v...	22	4.4
lcl id:23354 sa:0 line(Hom a 3.0101) line(Lit v 3.0101) line(Pen...	22	5.9
lcl id:67864 sa:0.142306828169586 conf(model_Bra_n_2):ID39,38,37...	22	6.6
lcl id:34905 sa:4.61914944940815 conf(model_Bra_n_2):ID38,37,36,...	21	8.2
lcl id:45705 sa:0.00402893256689216 line(Mal1_p_1_P299):ID250,25...	21	10.0
lcl id:50232 sa:1.34212425480145 line(Jug r 4.0101)	21	11
lcl id:37667 sa:2.42563448362928 line(Jug r 4.0101)	21	12
lcl id:73672 sa:2.76153626957901 line(model_Ana_c_1):ID34,35,36,...	21	13
lcl id:41902 sa:6.4026238671023 line(model_Ana_c_1):ID23,34,35,3...	21	13
lcl id:20364 sa:6.55653681960148 line(model_Ana_c_1):ID35,36,37,...	21	13
lcl id:2607 sa:6.55653681960148 line(model_Ana_c_1):ID36,37,38,3...	21	13
lcl id:34254 sa:4.61914944940815 conf(Che_a_3_2OPO):ID41,40,39,3...	21	14
lcl id:3749 sa:1.0163354392812 line(Ole e 11.0101)	21	14
lcl id:52014 sa:0.142306828169586 conf(Che_a_3_2OPO):ID42,41,40,...	21	14
lcl id:70475 sa:1.81137910078494 line(Jug r 4.0101)	21	17
lcl id:22426 sa:0.00402893256689216 line(Vesp c 1)	20	20
lcl id:66861 sa:1.51233329060349 line(model_Der_f_15):ID259,260,...	20	22
lcl id:34448 sa:1.11947958102315 line(Ole e 11.0101)	20	26
lcl id:52612 sa:0 conf(model_Dau_c_1.0101):ID69,68,67,66,65,64,6...	20	28
lcl id:72471 sa:0.00402893256689216 conf(model_Fol_d_5):ID54,53,...	20	28
lcl id:37354 sa:4.61914944940815 line(Sol_i_2_2YGU):ID70,71,72,...	20	29
lcl id:74832 sa:7.86768019801554 line(model_Cha_c_1):ID102,103,1...	20	30
lcl id:58226 sa:0 conf(model_Dau_c_1.0101):ID69,67,66,65,64,63,6...	20	30
lcl id:6697 sa:7.70069601409335 line(model_Cup_a_1.0101):ID82,83,...	20	30
lcl id:52153 sa:0 line(Vesp c 1)	20	32
lcl id:12033 sa:0.833701403852823 line(Hom a 3.0101) line(Lit v ...	20	32
lcl id:28662 sa:0 conf(model_Ves_p_5):ID202,201,200,199,198,197,...	20	33
lcl id:67356 sa:5.30733384062597 line(model_Doi_m_1.0101):ID22,2...	19	35
lcl id:51704 sa:6.4026238671021 line(model_Doi_m_1.0101):ID21,22,...	19	35
lcl id:80831 sa:7.86768019801554 line(model_Cup_a_1.0101):ID83,8...	19	37
lcl id:33512 sa:4.61914944940815 line(Sol_i_2_2YGU):ID71,72,73,...	19	38
lcl id:24786 sa:0.00402893256689216 conf(model_Ves_p_5):ID199,19...	19	40
lcl id:72931 sa:0 conf(model_Ves_p_5):ID201,200,199,198,197,196,...	19	44
lcl id:19123 sa:0 conf(model_Ses_i_3):ID224,225,226,227,228,245,...	19	46
lcl id:28892 sa:0 conf(model_Mal_d_2):ID34,33,32,31,30,29,28,27,...	19	49
lcl id:79238 sa:7.86768019801554 line(model_Cha_c_1):ID103,104,1...	19	51
lcl id:48513 sa:0 conf(model_Ses_i_3):ID225,226,227,228,245,244,...	19	52
lcl id:30298 sa:0.00402893256689216 conf(model_Ves_p_5):ID200,19...	19	53
lcl id:80674 sa:5.30733384062597 line(Hev b 9)	19	54
lcl id:33951 sa:6.22063503365176 line(Che a 2.0101)	19	58
lcl id:48540 sa:1.0262400761191 line(Che a 3.0101)	18	68

Найдено более 500 пептидов, обладающих сходством с последовательностью анализируемого белка

```
>3DJF:A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE
MHESVTANIENVKKVAHHIQKLTSSIVPEIGIICGSSGLGKLADGVKDKITIPYTKIPNFPQTSV
VMQGRFHMIEGYSNDTVALPIRVMKLLGVKILMVSNAAGGLNLSKLDGFVILKDHIIPLPGLGNNILV
GPNQAEAFGTRFPALSNAAYDRDLRKLAVQVAEENGFGNLVHQGVYVMNGGPCYETPAECTMLLN
MGCDVVMSTIPEVVIARHCGIQVFAVSLVTNISVLDVESDLKPNHEEVLATGAQRAELMQSWFEKII
EKLPKD
```

конформационный пептид

LGKLADG

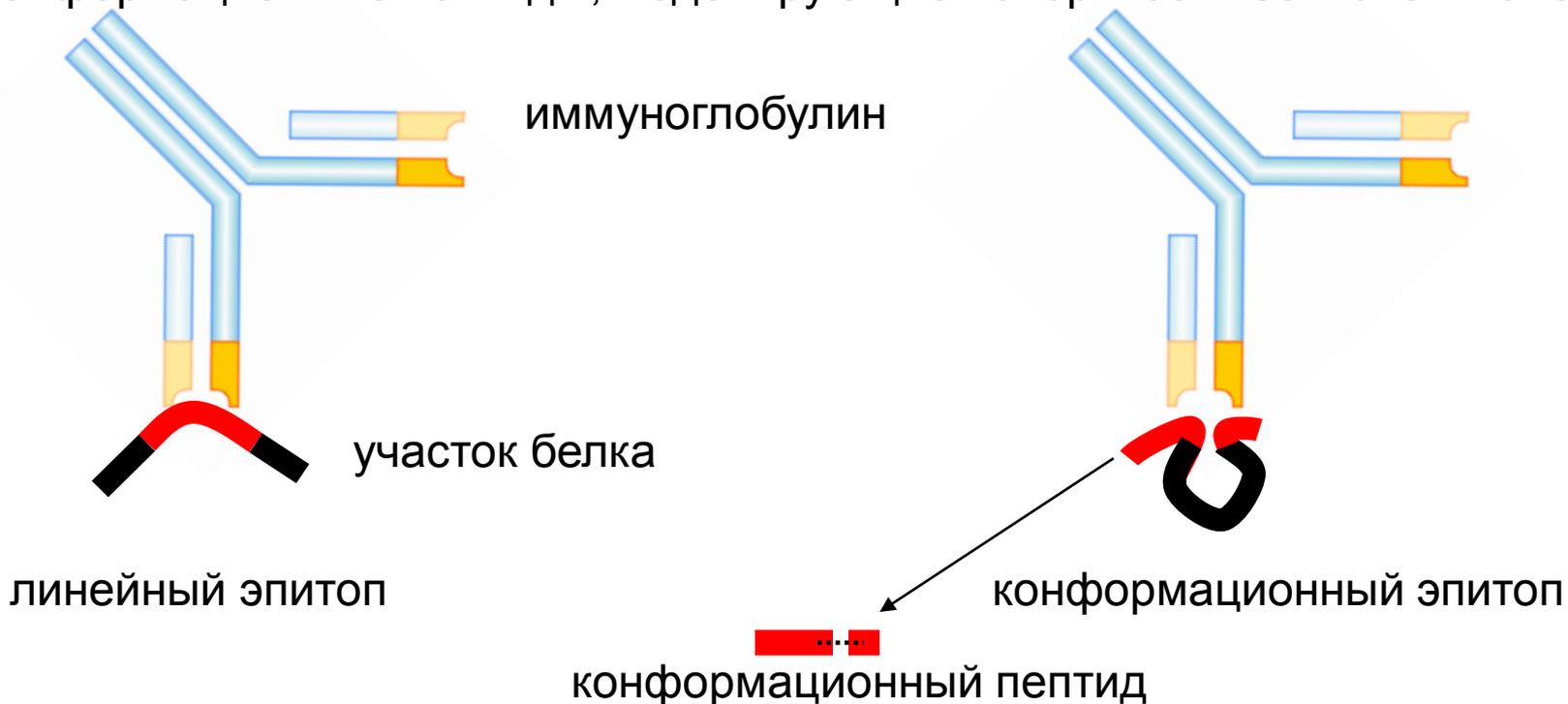


3DJF-Пури-нуклеозид фосфорилаза  
*Schistosoma mansoni*

2OPO- аллерген Che a 3 *Chenopodium album*  
LGKLADG – последовательность конформационного пептида из базы данных LCP

# Метод предсказания аллергенности белков на основе конформационных пептидов

Известно, что медиаторы воспаления, вызывающие симптомы аллергии (гиперчувствительности 1-го типа), выделяются после контакта IgE, расположенных на поверхности тучных клеток или базофилов, с аллергеном. Связываться IgE могут как с линейными так и с конформационными эпитопами. Поэтому было предложено для поиска аллергенных эпитопов дополнительно к анализу линейных участков последовательности использовать конформационные пептиды, моделирующие поверхность белковой молекулы.



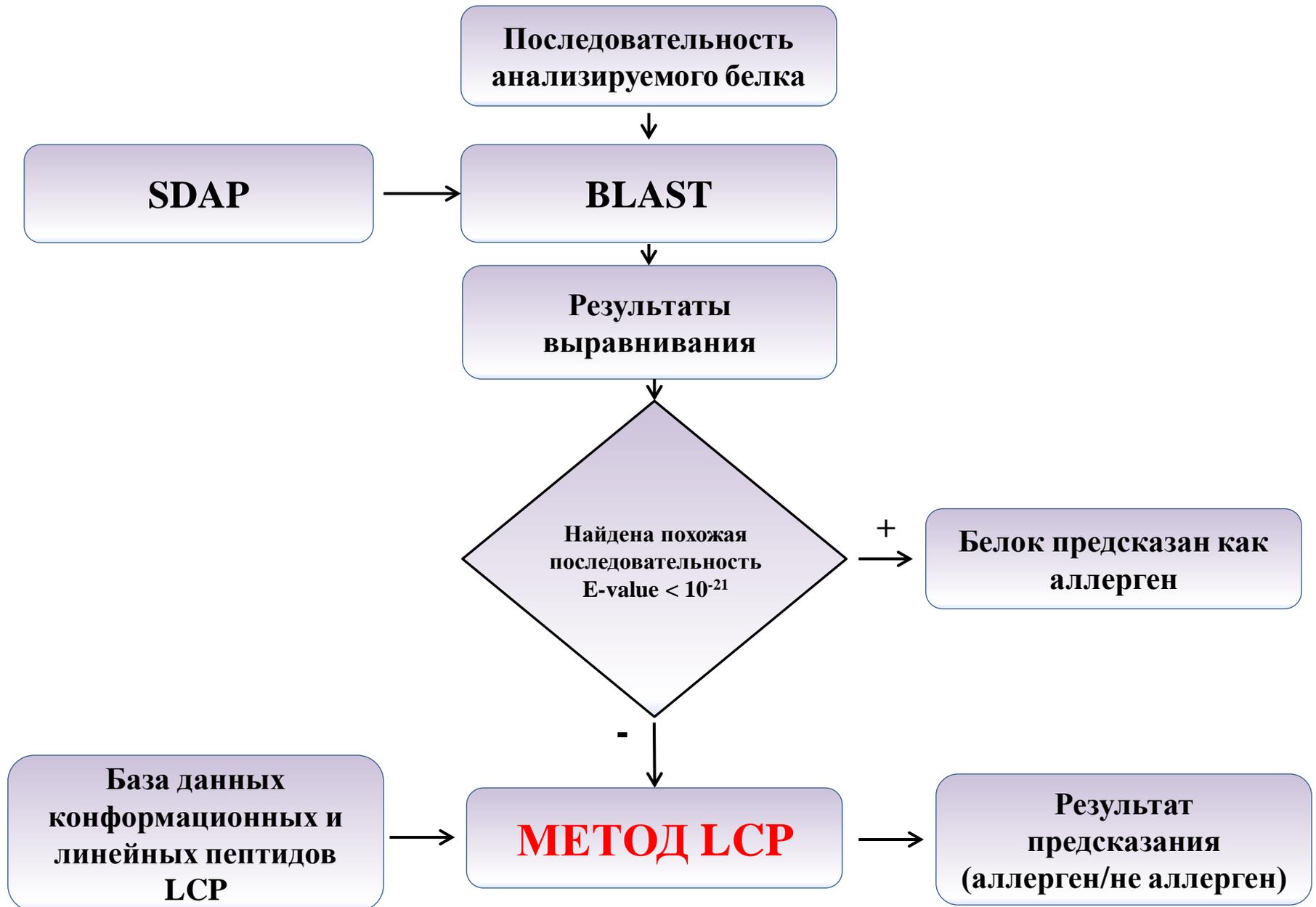
# Схематичное описание метода LCP



$$DF = \frac{\sum_{i=1}^N SA_i}{L}$$

где  $SA_i$  – вес  $i$ -го пептида из анализируемого белка,  $N$  – число пептидов анализируемого белка, совпадающих с пептидами из аллергенов,  $L$  – длина анализируемого белка

# Блок-схема расширенного метода LCP, использующего BLAST



# Оценки точности предсказания белков-аллергенов

Метод предсказания аллергенности	Ошибка недопредсказания	Ошибка перепредсказания
Метод, основанный на линейных пептидах	0.171	0.068
Метод предсказания LCP	0.143	0.068
Метод предсказания LCP + BLAST	0.079	0.042
AllerHunter (Muh <i>et al.</i> , 2009)	0.163	0.068

$E1$  – ошибка недопредсказания

$$E1 = \frac{FN}{(TP + FN)}$$

$E2$  – ошибка перепредсказания

$$E2 = \frac{FP}{(TN + FP)}$$

где  $TP$  –аллергены, предсказанные как аллергены,  $FN$  – аллергены предсказанные, как не аллергены,  $TN$  – не аллергены, предсказанные, как не аллергены,  $FP$  – не аллергены, предсказанные как аллергены,  $E1$  – ошибка недопредсказания,  $E2$ – ошибка перепредсказания

# Вэб -интерфейс программы, реализующей разработанный метод предсказания аллергенности белков в системе Protein Structure Discovery



*Protein*

*structure*

*discovery*

**Function**

**Structure**

**Polymorphism**

**Immunology**

**Evolution**

**Metabolism**

## Function

- [Blast-psd](#)
- [HHSearch](#)
- [GeneExp](#)
- [PDBSite](#)
- [PDBSiteScan](#)
- [Prosite\\_scan](#)
- [SP-GOfun](#)
- [SubLoc\\_procaryotic](#)
- [SubLoc\\_eucaryotic](#)
- [WebProAnalyst](#)

## Structure

- [Modeller](#)
- [PDB3DScan](#)

## Polymorphism

- [Polym\\_auto](#)
- [ProtStability1D-m](#)
- [ProtStability3D](#)
- [SNP2PDBSite](#)
- [SNP2Prosite](#)
- [SNP2WebProAnalyst](#)

## Immunology

- [Allergen](#)
- [Bepitope](#)
- [Cleavage](#)

## Allergen

Enter protein sequence in FASTA format (length>=8) :

```
>gi|118638268|gb|ABL09307.1| allergen Aca s 13 [Acarus siro]
MVQINGSYKLEKSDNFDAFLKELGLNEFVTRNLAKSATPTVEVSVNGDSYTIKTASTLKNTIEISFKLGEEF
EEARADGKTVKTVVNKESDTKQVQVQGDKEVTIVREFSDEGLTIVTATVNGVTSVRFYKRQ
```

[Example](#)

[Help](#)

# Анализ аллергенности белков шистосомы

- 1) Анализировалось 83 белка из организма *Schistosoma mansoni* с известной либо предсказанной трехмерной структурой.
- 2) Для каждого белка было проведено предсказание аллергенности.
- 3) Для всех белков проводился расчет конформационных пептидов.
- 4) Была проведена иерархическая кластеризация белков по сходству их конформационных пептидов.

Уровень сходства между пептидами рассчитывался при помощи Pscore:

$$Pscore = \left(\frac{1}{N}\right) * \sum_{k=1}^N \frac{2Pij_k}{Pii_k + Pjj_k}$$

$Pij$ ,  $Pii$ ,  $Pjj$  – значения матрицы PAM30 (Point accepted mutation) для аминокислот  $i$  и  $j$ .  $N$ -длинная пептидов.  $k$ - номер позиции в пептиде. PAM30 наиболее часто используется при выравнивании коротких пептидов.

Сходство между белками для кластеризации (*Correl*) рассчитывалось по формуле:

$$Correl = \frac{SimComp}{AllComp}$$

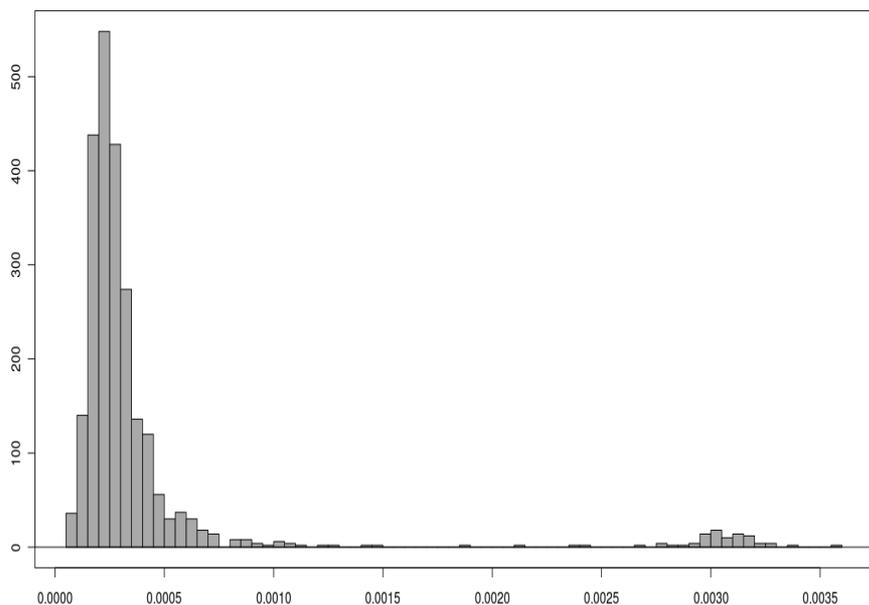
*SimComp* - количество совпадений между пептидами из двух разных белков, Pscore которых был выше 0.2 *AllComp* – число всевозможных сравнений между пептидами из двух белков (каждый пептид из одного белка сравнивался с каждым пептидом из другого белка).



# Анализ сходства белков суперсемейства гидролаз на основе сравнения конформационных пептидов

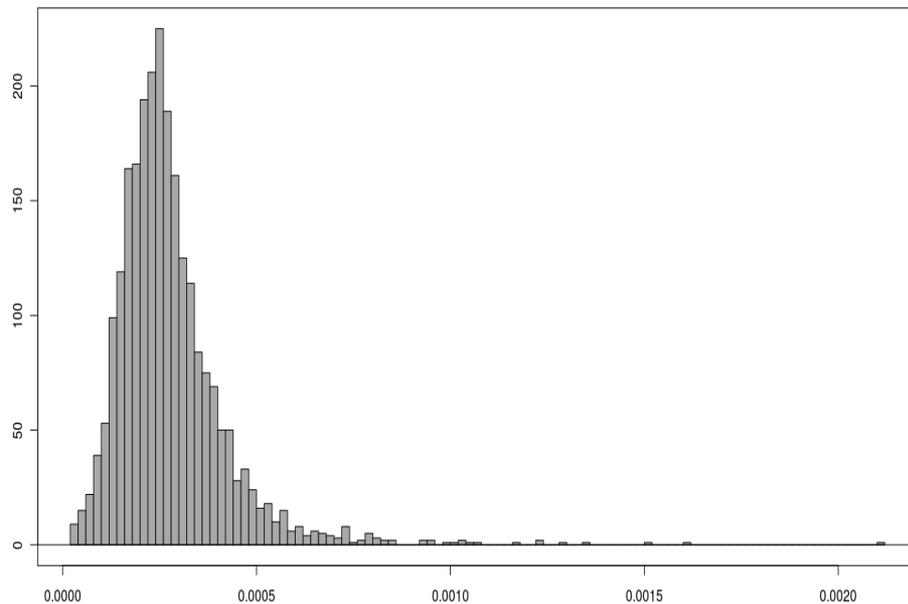
Было выбрано 50 негомологичных гидролаз и 49 случайных белков из базы данных PDB.

гидролаза-гидролаза



По оси x отложена доля совпадающих пептидов пар белков гидролаза-гидролаза. По оси y - количество белков, соответствующих доле совпадающих пептидов.

гидролаза - случайный белок



По оси x отложена доля совпадающих пептидов пар белков гидролаза-случайный белок. По оси y - количество белков, соответствующих доле совпадающих пептидов.

С использованием теста Уилкоксона было показано достоверное различие среднего количества совпадающих пептидов в суперсемействе гидролаз от ожидаемого по случайным причинам.

# Анализ аллергенности белков микроорганизмов

Анализировались протеомы из 546 видов микроорганизмов. Базы данных GenBank и BioProject.



Предсказание аллергенности расширенным методом LCP



Аллергенность организмов рассчитывалась как доля аллергенных белков в их протеоме



Дисперсионный анализ. Факторы – условия среды, зависимая переменная – аллергенность организмов.

С помощью дисперсионного анализа были выявлены 4 значимые характеристики микроорганизмов, связанные с аллергенностью (патогенность, наземный способ существования, принадлежность к аэробам, принадлежность к мезофилам). Среди них на первом месте по значимости оказалась патогенность микроорганизмов.

## Положения, выносимые на защиту

- База данных конформационных и линейных пептидов, моделирующих молекулярную поверхность, известных белков-аллергенов, содержащая также оценки их возможного вклада в аллергенность данных белков.
- Метод предсказания аллергенности белков на основе использования данных об их пространственных структурах путем идентификации и анализа конформационных пептидов.
- Существует связь между функцией/свойством белков и их конформационными пептидами, согласно которой белки, обладающие общими функциями или свойствами (такими как аллергенность) статистически чаще по сравнению со случайными белками обладают сходными конформационными пептидами.

# Выводы

- 1) Создана база данных конформационных и линейных пептидов, моделирующих молекулярную поверхность, известных белков-аллергенов, содержащая также оценки их возможного вклада в аллергенность данных белков. База данных интегрирована с программой BLAST, позволяющей проводить сравнение пептидов с последовательностями белков.
- 2) Разработан метод предсказания аллергенности белков на основе использования данных об их пространственных структурах путем идентификации и анализа конформационных пептидов. Показано, что использование информации о конформационных пептидах для предсказания аллергенности белков повышает точность предсказания по сравнению с методами, использующими только линейные пептиды. Точность разработанного метода превышает известные аналоги.
- 3) Показано, что сходство между негомологичными белками-аллергенами характеризуется наличием общих конформационных и линейных пептидов, что может быть обусловлено наличием у них сходных эпитопов связывания IgE.

## Выводы

- 4) С использованием разработанного метода были предсказаны белки-аллергены из *Schistosoma mansoni*, а также проведена иерархическая кластеризация белков шистосомы по критерию сходства конформационных и линейных пептидов, моделирующих поверхности сравниваемых белков. Показано, что полученная кластеризация белков согласуется с их функциональной группировкой. Также на примере негомологичных белков из суперсемейства гидролаз впервые показано, что белки, обладающие общими функциями, статистически чаще по сравнению со случайными белками обладают сходными конформационными пептидами.
- 5) На основе анализа более 500 видов архей и бактерий, включая экстремофилов, впервые показано, что аллергенность микроорганизмов (доля аллергенных белков в протеоме) статистически значимо связана с их патогенностью, ареалом, температурными условиями среды обитания и потребностью в кислороде. Оказалось, что фактором, наиболее тесно связанным с аллергенностью, является патогенность микроорганизмов.

## Статьи:

- 1. A.O. Bragin**, P.S. Demenkov, N.A. Kolchanov, V.A. Ivanisenko Accuracy of protein allergenicity prediction can be improved by taking into account data on allergenic protein discontinuous peptides J Biomol Struct Dyn. – 2012. - Epub ahead of print
- 2.1. Брагин А.О.**, Деменков П.С., Иванисенко В.А. Предсказания аллергенности белков с использованием информации о конформационных пептидах // Вавиловский журнал генетики и селекции – 2011. - Т. 15. № 3. - С. 462-468
- 2.2. A.O. Bragin**, P.S. Demenkov, V.A. Ivanisenko Protein Allergenicity Prediction on the Basis of Conformational Peptides Russian Journal of Genetics: Applied Research.- 2012. - V. 2. N. 1. P. 18-22
- 3.** Björn Sommer, Evgeny S. Tiys, Benjamin Kormeier, Klaus Hippe, Sebastian J. Janowski, Timofey V. Ivanisenko, **Anatoly O. Bragin**, Patrizio Arrigo, Pavel S. Demenkov, Alexey V. Kochetov, Vladimir A. Ivanisenko, Nikolay A. Kolchanov and Ralf Hofestädt. Visualization and Analysis of a Cardio Vascular Disease- and MUPP1-related Biological Network combining Text Mining and Data Warehouse Approaches. Journal of Integrative Bioinformatics, 7(1):148, 2010. Online Journal: [http://journal.imbio.de/index.php?paper\\_id=148](http://journal.imbio.de/index.php?paper_id=148)
- 4.** Ю.Л. Орлов, **А.О. Брагин**, И.В. Медведева, К.В. Гунбин, П.С. Деменков, О.В. Вишнеvский, В.Г. Левицкий, Д.Ю. Ощепков, Н.Л. Подколотный, Д.А. Афонников, И. Гроссе, Н.А. Колчанов ICGenomics: программный комплекс анализа символьных последовательностей геномики Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. - Т. 16 № 4/1. – С. 730-739.
- 5. А.О. Брагин**, П.С. Деменков, В.А. Иванисенко Компьютерный анализ взаимосвязи аллергенности микроорганизмов и среды их обитания Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012- Т. 16 № 4/1. – С. 857-863.

## Тезисы:

1. **Bragin A.O.**, Demenkov P.S., Ivanisenko V.A Computer analysis of conformational peptides in protein families // The seventh international conference on bioinformatics of genome regulation and structure – 2010. P. 49.
2. **А.О. Брагин**, П.С. Деменков, В.А. Иванисенко Компьютерный анализ связи конформационных пептидов с аллергенностью белков // Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине: геномика, протеомика, биоинформатика, г. Новосибирск, 14-17 ноября 2011 г. – Новосибирск, – 2011. С. 116.
3. **Брагин А.О.**, Деменков П.С., Иванисенко В.А. Компьютерный анализ связи конформационных пептидов с аллергенностью белков. // Третья школа молодых ученых биоинформатика и системная биология – 2011
- 4.1. **А.О. Bragin**, P.S. Demenkov, V.A. Ivanisenko Application of conformational peptides for analysis of allergenic proteins // the 8th International Conference on Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology – Novosibirsk – 2012. –P. 66.
- 4.2. **А.О. Bragin**, P.S. Demenkov, V.A. Ivanisenko Application of conformational peptides for analysis of allergenic proteins // International Conference on Postgenomic Technology for BiomedicineNovosibirsk, Russia, 25-29 June 2012. – Новосибирск-2012. P. 79.

Результаты работы представлялись на 9-х конференциях. Сданы экзамены: философия, английский, специальность. Получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.