

Проект «Разработка научно-методической базы для проведения исследований и подготовки кадров при решении структурных и динамических задач фундаментальной и прикладной биологии с использованием современных источников рентгеновского излучения и нейтронов»

Заключительный краткий отчет за 2024 год (4 этап реализации проекта)

В рамках выполнения четвертого этапа были проведены научные исследования согласно плану-графику на 2024 год по Соглашению № 075-15-2021-1354 от 07.10.2021 г. в редакции Дополнительного соглашения от 28.06.2024 г. №075-15-2021-1354/12 на выполнение исследовательской программы по теме «Разработка научно-методической базы для проведения исследований и подготовки кадров при решении структурных и динамических задач фундаментальной и прикладной биологии с использованием современных источников рентгеновского излучения и нейтронов».

На отчетном этапе работ консорциумом исполнителей проведены исследования различных биологических систем (и их отдельных компонент) с использованием широкого спектра современных методов, в том числе структурных, основанных на синхротронном и нейтронном излучении. В частности, получены новые данные о молекулярных механизмах функционирования ряда флуоресцентных белков, каротиноид-связывающих белков, трансаминаз и ферментов бактериофагов. Проведен цикл структурных исследований флавин-связывающих белков из *Chloroflexus aggregans*, рековерина, белков из микобактерий, ретинальных белков, ксантородопсина и MacR. С применением методов интегративной структурной биологии изучены белки хроматина, включая их комплексы с нуклеиновыми кислотами, а также комплексы белков 14-3-3 с фрагментами белков-партнеров. По результатам выполненного этапа опубликовано 17 статей в журналах, индексируемых WEB of Science (Core Collection), подано 2 заявки на патенты РФ на изобретения.

В соответствии с планом-графиком исполнителями проекта проведены занятия по подготовке специалистов в области структурных исследований в рамках разработанных программ образования (46 человек), включая обучение как в рамках основных профессиональных образовательных программ (бакалавриат и магистратура – 26 человек), так и в рамках программы дополнительного образования (повышение квалификации – 20 человек). Указанные образовательные программы включали как лекционные, так и практические занятия с реальными молекулярными объектами. Разработанная программа дополнительного образования показала свою востребованность среди студентов старших курсов и в будущем может войти в состав спецкурсов профильных структурных подразделений МГУ. Разработанные программы бакалавриата и магистратуры высоко востребованы студентами МФТИ и уже вошли в учебную программу кафедры «Биофизики».

Выполнены работы по развитию сетевой исследовательской инфраструктуры в части усовершенствования установок для получения характеристик олигомерного состояния и размера биомолекул в растворе, для получения характеристик стабильности белков и комплексов и предкристаллизационного скрининга биомакромолекул, для кристаллизации растворимых макромолекул и высокопроизводительной *in meso* кристаллизации мембранных белков, для белковой кристаллографии и рассеяния рентгеновских лучей, для

биофизической и функциональной характеристики белков. Проведена модернизация лазерного спектрометра для экспериментов в режиме накачки-зондирования и установки для измерения температурных зависимостей спектрально-временных характеристик биологических образцов в широком диапазоне температур, а также закончено усовершенствование комплекса для исследования конформационной динамики единичных биологических молекул. Обновлена инфраструктура для обработки и хранения полученных структурных данных.

Результаты, полученные в ходе научных исследований ряда биологических систем, показали перспективность методов рационального дизайна макромолекул, основанного на анализе доступных структурных данных, и важность их получения. Также следует отметить важность интеграции использованных нами структурных и комплементарных методов исследования, позволяющих оценить динамику организации белковых макромолекул и конформационную подвижность отдельных её элементов. Полученные результаты раскрывают не только фундаментальные принципы организации ряда фотоактивных белков, но также создают основу для разработки новых генетически кодируемых оптических систем управления активностью клеток.

Учитывая важность создания новых оптогенетических инструментов, результаты проекта могут быть востребованы не только для продолжающихся фундаментальных исследований, но и для применения в некоторых медицинских задачах, в том числе, связанных с оптогенетическим протезированием зрения. Структурные результаты в части ферментов с биомедицинским применением могут быть полезны при разработке новых антисептических и лекарственных препаратов (т.н. structure-assisted drug design) от социально-значимых заболеваний. Результаты в части белков хроматина позволили прояснить молекулярные механизмы функционирования ряда таких белков и уточнить их роль в осуществлении таких жизненно важных процессов как репликация, транскрипция и репарация в эукариотической клетке.

Созданная в рамках проекта сетевая исследовательская инфраструктура будет использована в дальнейшем участниками Консорциума, а также заинтересованными научными коллективами для сопровождения и поддержки структурно-биологических исследований различного масштаба. Начато и будет продолжено взаимодействие со строящимся синхротронным источником 4-го поколения СКИФ в части выработки рекомендаций по оснащению и конфигурации экспериментальных станций, а также по созданию консорциума пользователей синхротронного излучения. Ряд подходов и методик, созданных в рамках проекта, зарекомендовали себя как универсальные методы оценки качества и состояния биологических объектов для последующих структурных исследований.

Отдельный интерес представляют отработанные методы спектроскопии в режиме накачки-зондирования, потенциально совместимые с работами на источниках синхротронного излучения для изучения динамики биологических макромолекул. Таким образом, по результатам выполнения отчетного этапа проекта были успешно проведены работы по всем трем заявленным направлениям реализации Мероприятий Федеральной программы. Полученные результаты и разработанные отчетные материалы соответствуют требованиям Плана-графика.

Достигнутые значения индикаторов соответствуют установленным требованиям Соглашения, а по ряду позиций превосходят их. Исследовательская программа Проекта выполнена в полном объеме, а все поставленные цели достигнуты. Следует отметить, что достижение целей было выполнено несмотря на политические ограничения доступа к ряду зарубежных синхротронных и нейтронных источников, которые были успешно замещены в рамках проекта отечественной мега-сайенс инфраструктурой и инфраструктурой дружественных стран.