

**Сведения о ходе выполнения проекта
по Соглашению с Минобрнауки России о предоставлении субсидии
от «05» ноября 2015 г. № 14.616.21.0048
На этапе № 1**

Руководитель проекта В.И. Тимофеев

Завершены работы по Соглашению с Минобрнауки России о предоставлении субсидии № 14.616.21.0048 от «05» ноября 2015 г. «Исследование пространственной структуры белков, имеющих медицинское или промышленное значение методом рентгеноструктурного анализа на базе Европейского центра синхротронного излучения» (уникальный идентификатор — RFMEFI61615X0048) в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 - 2020 годы». На этапе №1 в период с 5 ноября по 31 декабря 2015 года были выполнены следующие работы:

1. Работы, выполненные в отчетный период:

1.1. Работы, выполненные за счет средств субсидии:

- 1) Выполнен аналитический обзор научных и информационных источников (научно-технической, нормативной, методической литературы, публикаций в научных журналах, монографий и т.д.), затрагивающих научную задачу, исследуемую в рамках исследований;
- 2) Проведены патентные исследования в соответствии с ГОСТ 15.011-96.
- 3) Разработана Программа и методики экспериментальных исследований.
- 4) Проведены предварительные рентгенодифракционные экспериментальные исследования кристаллов белков (лизоцима, имидазол-глицерол-фосфатдегидратазы в апо-форме и в комплексе с лигандами, карбоксипептидаз Б и Т (мутантные формы), белка гликолипидного транспорта человека (мутантная форма)) на базе КИСИ.
- 5) Проведены обработка и анализ результатов предварительных рентгенодифракционных экспериментальных исследований белков (лизоцима, имидазол-глицерол-фосфатдегидратазы в апо-форме и в комплексе с лигандами, карбоксипептидаз Б и Т (мутантные формы), белка гликолипидного транспорта человека (мутантная форма)) на базе КИСИ.

- 6) Проведены рентгенодифракционные экспериментальные исследования белков (лизоцима, имидазол-глицерол-фосфатдегидратазы в апо-форме и в комплексе с лигандами, карбоксипептидаз Б и Т (мутантные формы), белка гликолипидного транспорта человека (мутантная форма)) совместно с иностранным партнером на базе синхротронной станции Европейского центра синхротронного излучения.
- 7) Проведен рентгенодифракционный анализ кристаллов белков с использованием синхротронной станции Европейского центра синхротронного излучения
- 8) Проведены обработка и анализ рентгенодифракционных экспериментальных исследований белков (лизоцима, имидазол-глицерол-фосфатдегидратазы в апо-форме и в комплексе с лигандами, карбоксипептидаз Б и Т (мутантные формы), белка гликолипидного транспорта человека (мутантная форма)) совместно с иностранным партнером на базе синхротронной станции Европейского центра синхротронного излучения и получение трехмерных структур белков и их комплексов, а именно: структура ИГФ из бактерии - возбудителя туберкулеза в в апо-форме и в комплексе с ингибиторами, структуры мутантных форм карбоксипептидаз Б и Т в апо-форме и в комплексе с функциональными лигандами, мутантной формы белка гликолипидного транспорта человека.
- 9) Изучено влияние различных подложек на структурные особенности белковых компонент гибридных систем.
- 10) Проведены обобщение и оценка полученных результатов.
- 11) Разработаны рекомендации и предложения по использованию результатов ПНИ.
- 12) Разработан и рассмотрен на научно-техническом совете заключительный отчет о ПНИ.
- 13) Разработана отчетная документация в соответствии нормативными актами Минобрнауки России

1.2. Работы (мероприятия), выполненные за счет внебюджетных средств:

- 1) Проведен рентгенодифракционный анализ кристаллов белков с использованием синхротронной станции Европейского центра синхротронного излучения.

2. Основные результаты, полученные в отчётный период:

- Проведены скрининг и оптимизация условий кристаллизации целевых белков, методом диффузии паров растворителя с использованием специализированных кристаллизационных планшетов выращены кристаллы целевых белков.
- Для исследования влияния подложки на кристаллы белка были подготовлены стеклянные подложки со специальным гидрофобными покрытиями: силанизированные, с покрытием SuperFrost, с покрытием Poly-L-Lysin, а также покровные стекла без покрытия. На силанизированные подложки методами Ленгмюра-Блоджетт и Ленгмюра-Шеффера были нанесены монослой и многослойные системы различных соединений. Методом диффузии паров растворителя на подложках выращены кристаллы лизоцима.
- С использованием выращенных кристаллов проведены предварительные рентгенодифракционные исследования на синхротронной станции “БЕЛОК” КИСИ и лабораторном дифрактометре BRUKER ЦКП ИК РАН. Показано, что выращенные кристаллы являются белковыми и пригодны для рентгенодифракционного исследования.
- Совместно с Иностранным партнером в результате серии рентгенодифракционных экспериментов на Европейском источнике синхротронного излучения (станция ID23-1) было получено 43 набора рентгенодифракционных данных от кристаллов целевых белков. Полученные наборы позволяют определить пространственную структуру исследуемых белков. Полученные наборы в виде серий стандартных файлов, каждый из которых содержит одну рентгенограмму были сохранены на внешнем носителе и переданы российской стороне для дальнейшего анализа.
- С использованием полученных наборов методом молекулярного замещения (реализован в программе PHASER программного

комплекса ССР4) решены структуры исследуемых белков

В соответствии с заключением Комиссии Министерства образования и науки Российской Федерации по приемке работ обязательства Получателя субсидии на этапе № 1 Плана-графика по Соглашению о предоставлении субсидии от 05.11.2015 года №14.616.21.0048 исполнены в полном объеме.