

**Сведения о ходе выполнения проекта
по Соглашению №14.616.21.0003 от 17 сентября 2014 года (1 этап)
(Руководитель проекта – доктор физико-математических наук
Новикова Наталья Николаевна)**

В ходе выполнения проекта «Разработка научных основ применения рентгеновских лазеров на свободных электронах для биологических исследований» по Соглашению о предоставлении субсидии №14.616.21.0003 от 17 сентября 2014 года (уникальный идентификатор прикладных научных исследований RFMEFI61614X0003) с Министерством образования и науки России 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 17 сентября по 31 декабря 2014 года выполнялись следующие работы:

1. Выполнен аналитический обзор современной научно-технической, нормативной, методической литературы, затрагивающей научно-техническую проблему, исследуемую в рамках ПНИ.

2. Проведен патентный поиск и подготовлен отчет о проведении патентных исследований в соответствии ГОСТ Р15.011-96.

3. Дано обоснование выбора направлений и методик исследований.

4. Дано обоснование выбора объектов, методов проведения экспериментов, платформ, аппаратных средств, средств разработки программ, способов представления данных.

5. Разработаны методы преобразования дифракционных изображений отдельных макромолекул в характеристический вектор.

6. Разработаны принципы манипулирования и удержания микро- и нано частиц с применением лазеров.

7. Проведен биоинформатический анализ архитектурных белков *D. Melanogaster*, участвующих в формировании инсуляторных комплексов, поиску фрагментов, соответствующих структурным доменам

Кроме того, иностранным партнером – Европейской лабораторией молекулярной биологии выполнены следующие работы:

8. Выполнен аналитический обзор современной научно-технической, нормативной, методической литературы, затрагивающей проблему получения наночастиц, содержащих мембранные белки. Дано обоснование выбора направлений и методик исследований.

9. Дано обоснование выбора объектов исследования, в первую очередь нанодисков и липодисков, содержащих комплексы сенсорного родопсина с трансдюсерным белком, и методов их получения.

При этом были получены следующие результаты:

В результате проведенных исследований был обоснован выбор белков – объектов, а именно: GPCR -CysLT1, каталитическая субъединица теломеразы *O. Polymorpha* (TERT), бактериородопсин *Halobacterium salinarum*, N- и C-концевые домены белка CTCF, ZAD-домены белков CG6654, Serendipity-d, Pita и Zw5, ВТВ-домен белка CP190, гистоноподобные ДНК-связывающие HU-белки.

Предложен алгоритм метода преобразования дифракционных изображений отдельных макромолекул в характеристический вектор. Разработаны принципы манипулирования и удержания микро- и нано частиц с применением лазеров, включающие метод быстрой и чувствительной регистрации частицы. Алгоритм предполагает следующие режим работы: (1) ожидание: система ждет появления частицы в объеме будущей перетяжки, и переходит в режим захвата во время максимального приближения частицы к центру будущей ловушки. (2) захват: включение ловушки, ожидание некоторого времени T для определения произошел ли захват или частица вылетела с ловушки, также для определения начального значения; (3) охлаждение: охлаждение поступательных степеней свободы путем модуляции мощности лазера.

Выполнен биоинформатический анализ архитектурных белков *D. melanogaster*, участвующих в формировании инсуляторных комплексов, в результате были отобраны следующие белки: CP190, CTCF, Su(Hw), Zw5, CG6654, Serendipity-d, Pita. Проведен поиск фрагментов, соответствующих структурным доменам отобранных архитектурных белков *D. melanogaster*, который проводили с помощью биоинформатического анализа, в ходе которого проводилось сравнение белковых последовательностей отобранных белков с базой данных белковых последовательностей BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Проведена теоретическая оценка их экспрессируемости и стабильности, в результате чего отмечено, что (i) целесообразной является работа с отдельными доменами исследуемых белков, (ii) необходимо использовать специальные штаммы, в которые искусственно введены гены для редких тРНК (iii) желательно экспрессировать целевые фрагменты в виде слитых (химерных) белков, содержащих в своём составе широко используемые в белковой инженерии таги: глутатион-S-трансферазу, тиоредоксин или мальтоз-связывающий белок (iv) Гистоноподобные NU-белки можно экспрессировать в полноразмерном варианте в связи с их малым размером и высокой структурируемостью.

Примененные методы вычисления характеристических векторов для дифракционных изображений макромолекулярных объектов и их применение для задач автоматической классификации, кластеризации, фильтрации экспериментальных данных позволяют выделять из потока экспериментальных данных качественные изображения, содержащие дифракционную картину интересующих макромолекул, а также выбирать набор изображений для реконструкции пространственной структуры исследуемых объектов.

На этапе № 1 получение результатов интеллектуальной деятельности не планировалось.