

ОТЧЕТ О РЕАЛИЗАЦИИ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ПРОГРАММЫ (ПРОЕКТА)

предварительный

отчетный период:

с 07.10.2021 по 31.12.2023

1. Наименование получателя: Федеральное государственное учреждение "Федеральный исследовательский центр "Фундаментальные основы биотехнологии" Российской академии наук"

2. Соглашение о предоставлении гранта в форме субсидии: №075-15-2021-1354 от "7" октября 2021 г.

3. Тема исследовательской программы (проекта): 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

4. Направления реализации Федеральной научно-технической программы:

Синхротронные и нейтронные исследования (разработки) в области живых систем, органических и гибридных материалов

5. Финансовое обеспечение реализации исследовательской программы (проекта)

Год реализации исследовательской программы (проекта) в отчетном периоде	Средства федерального бюджета, тыс. руб.		Средства внебюджетных источников, тыс. руб.		Всего, тыс. руб.	
	план	факт	план	факт	план	факт
2021	71000	70533,47172	7100	7474,99446	78100	78008,46618
2022	90000	90000	9000	10346,91268	99000	100346,91268
2023	94000	94000	9400	9453487,8	103400	9547487,8
Итого:	255000	254533,47172	25500	9471309,70714	280500	9725843,17886

6. Достигнутые значения показателей, необходимых для достижения результата предоставления гранта, а также значений иных показателей

№ п/п	Наименование показателя	Единица измерения	Значения на отчетный период					
			2021		2022		2023	
			запланировано	достигнуто	запланировано	достигнуто	запланировано	достигнуто
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Индикаторы								
1	Количество заявок на получение патентов на изобретения в области синхротронных и нейтронных исследований (разработок), не менее	Единиц	1	1	1	1	2	2
2	Количество лиц, прошедших обучение по дисциплинам (модулям), входящим в образовательные программы, разработанные в рамках реализации исследовательской программы (проекта), не менее	Человек	0	0	40	49	40	46
3	Количество новых или усовершенствованных биомедицинских, продовольственных и других технологий, основанных на использовании свойств живых систем, органических и гибридных материалов, перешедших в стадию внедрения, не менее	Единиц	1	1	0	0	1	1

№ п/п	Наименование показателя	Единица измерения	Значения на отчетный период					
			2021		2022		2023	
			запланировано	достигнуто	запланировано	достигнуто	запланировано	достигнуто
1	2	3	4	5	6	7	8	9
4	Количество проведенных научных конференций и школ в области синхротронных и нейтронных исследований (разработок) для обучающихся и исследователей по направлениям реализации Федеральной программы в возрасте до 39 лет, не менее	Единиц	0	0	1	1	1	4
5	Количество публикаций в области синхротронных и нейтронных исследований (разработок) в журналах, индексируемых в международных базах данных, не менее	Единиц	2	2	13	15	15	18
6	Количество разработанных или адаптированных измерительных и (или) метрологических методик, основанных на использовании синхротронного или нейтронного излучения, не менее	Единиц	0	0	1	1	1	1
7	Количество созданных и осуществляющих деятельность на базе получателей гранта лабораторий и центров, включая центры коллективного пользования, не менее	Единиц	0	0	0	0	1	1

№ п/п	Наименование показателя	Единица измерения	Значения на отчетный период					
			2021		2022		2023	
			запланировано	достигнуто	запланировано	достигнуто	запланировано	достигнуто
1	2	3	4	5	6	7	8	9
8	Размер средств из внебюджетных источников, направленных на реализацию исследовательской программы (проекта), не менее	Процентов	10	10.53	10	11.5	10	10.06

7. Расходы на выполнение исследовательской программы (проекта), источником финансового обеспечения которых является грант

№ п/п	Наименование расходов	Фактические расходы за отчетный период (тыс. руб.)		
		2021	2022	2023
1	оплата труда, в том числе начисления на выплаты по оплате труда и иные выплаты работникам (персоналу), включая социальные выплаты, для реализации исследовательской программы (проекта)	10010.04153	22067.93581	13486.9019
2	расходы на приобретение оборудования, материалов и комплектующих для оборудования, иных нефинансовых активов, в том числе основных средств, нематериальных активов и материальных запасов, необходимых для реализации гранта	15888.0483	9497.90496	14021.92886
3	оплата командировок членов научного коллектива, реализующего исследовательскую программу (проект)	0	0	1005.50223
4	оплата научных стажировок молодых исследователей до 39 лет в организациях, на базе которых реализуется исследовательская программа (проект)	0	0	0

5	оплата участия членов научного коллектива лаборатории по направлению исследовательской программы (проекта) в конференциях, научных семинарах, симпозиумах	0	0	80.485
6	расходы, связанные с опубликованием научных статей и изданием монографий членов научного коллектива по направлению исследовательской программы (проекта)	0	0	0
7	оплата договоров на выполнение сторонними организациями работ, непосредственно связанных с осуществлением исследовательской программы (проекта), включая расходы на оплату научных исследований и работ, осуществляемых соисполнителями, указанными в исследовательской программе (проекте)	42600	58245.85518	58783.67801
8	оплата текущего ремонта лабораторий, а также прочие расходы, непосредственно связанные с осуществлением исследовательской программы (проекта)	0	0	0
9	оплата работ, услуг, в том числе услуг связи, транспортных услуг, коммунальных и эксплуатационных услуг, арендной платы за пользование имуществом (за исключением земельных участков и других обособленных природных объектов), оплата работ и услуг по содержанию имущества и прочих расходов, соответствующих целям предоставления гранта	2035.38189	188.30405	6621.504
10	оплата подготовки, профессиональной переподготовки и повышения квалификации членов научного коллектива лаборатории по направлению исследовательской программы (проекта)	0	0	0
11	оплата организации ежегодной научной конференции и школ для исследователей в возрасте до 39 лет по направлению исследовательской программы (проекта)	0	0	0
Всего:		70533,47172	90000	94000
в том числе сумма расходов по пп. 1-9		70533,47172	90000	94000
Доля расходов по пп. 1-9 от размера полученного гранта, %		99,34	100	100

8. Итоги реализации исследовательской программы (проекта) за отчетный период

8.1. Перечень использованных источников синхротронного и нейтронного излучения

В рамках реализации исследовательской программы с целью проведения структурных исследований использовались следующие источники излучения: 1) Синхротронный - НИЦ "Курчатовский институт", Москва, Россия. 2) Синхротронный - The European Synchrotron (European Synchrotron Radiation Facility - ESRF), Гренобль, Франция. 3) Синхротронный - Deutsches Elektronen-Synchrotron - DESY, Гамбург, Германия. 4) Синхротронный - Sirius (Бразилия). 5) Синхротронный - X-ray free electron laser Pohang Accelerator Laboratory - XFEL PAL, Корея 6) Иной источник излучения - домашний рентгеновский источник, Установка Rigaku MicroMax-007HF в МФТИ.

8.2. Достигнутые результаты исследовательской программы (проекта) и оценка их востребованности

По результатам выполнения исследовательской программы были успешно проведены работы по трем направлениям реализации Мероприятий Федеральной программы:

1. Проведение синхротронных и нейтронных исследований (разработок), необходимых для решения принципиально новых фундаментальных и крупных прикладных задач, в том числе:

- поддержка научных и научно-технических проектов, выполняемых организациями, в том числе совместно с организациями, действующими в реальном секторе экономики, представителями международного научного сообщества, а также проектов исследователей в возрасте до 39 лет;
- поддержка разработки и трансфера прорывных технологий, созданных с использованием результатов синхротронных и нейтронных исследований, а также ускорительных, реакторных и ядерных технологий, в том числе в рамках развития ядерной медицины;

2. Подготовка специалистов в области разработки, проектирования и строительства источников синхротронного и нейтронного излучения, а также научных кадров для проведения синхротронных и нейтронных исследований (разработок) в целях получения результатов мирового уровня, в том числе:

- разработка и реализация образовательных программ высшего образования и дополнительных профессиональных программ, направленных на создание прорывных технологических решений с применением синхротронных и нейтронных источников;
- организация и проведение научных конференций, школ и семинаров для исследователей и обучающихся по направлениям реализации Федеральной программы в возрасте до 39 лет.

3. Создание сетевой синхротронной и нейтронной научно-исследовательской инфраструктуры на территории Российской Федерации, в том числе создание и развитие на базе организаций лабораторий и центров, включая центры коллективного пользования, инфраструктуру для хранения, обработки и анализа экспериментальных данных, обеспечивающих ускоренное развитие синхротронных и нейтронных исследований, ускорительных, реакторных и ядерных технологий, в том числе технологий ядерной медицины.

По первому направлению были получены новые результаты мирового уровня в части комплексного структурно-функционального анализа мембранных белков (GPCR и ретинальные белки), фотоактивных белков (флуоресцентные белки и белки на их основе, каротиноид- и флаavin-связывающие белки), белков хроматина (включая крупные белок-нуклеотидные комплексы), а также белков, имеющих потенциал практического использования в биотехнологии и биомедицине.

В частности, проведен цикл работ, включающий структурно-функциональные исследования основных и переходных состояний ретинальных белков, в том числе с применением время-разрешенной кристаллографии. Выявлены структурные механизмы, ответственные за направленный транспорт протона, и продемонстрирована важная роль низко-барьерных водородных связей в этих процессах.

Получена структура высокого разрешения (2.2 Å) человеческого сфингозин-фосфатного GPCR рецептора SIP5 в комплексе с обратным агонистом ONO-5430608. Этот рецептор задействован в патогенезе большой гранулярной лимфомы и ряда нейродегенеративных заболеваний, является перспективной мишенью для основанной на структуре рациональной разработки лекарств.

Были проведены исследования структуры и функции уникальных водорастворимых фотоактивных белков, содержащих гидрофобную молекулу - каротиноид в качестве единственного хромофора. Для осуществления исследования были применены уникальные методы получения препаратов, связанные с введением неканонических аминокислот в белковую матрицу для локального изменения структуры, невозможную с набором «классических» замен, а также методы дейтерирования белков. Структуры отдельных белков и их комплексов были исследованы с использованием методов, базирующихся на синхротронных и нейтронных источниках излучения. Полученные результаты позволили установить новые особенности функционирования оранжевого каротиноидного белка, его взаимодействия с регуляторными белками и антенными комплексами цианобактерий. Исследования структуры сопровождались изучением кинетических особенностей данных объектов с помощью набора спектроскопических методов, что в совокупности позволило установить ряд важных особенностей функционирования системы регуляции фотосинтетической активности цианобактерий. Результаты исследований опубликованы в ведущих рецензируемых профильных журналах. Также по результатам работы получен патент RU2780954C1.

Проведено изучение принципов структурно-функциональной организации мембранных фотоактивных белков, относящихся к родосинам с дополнительной каротиноидной антенной. Установление структуры белка в комплексе с каротиноидом с высоким разрешением позволило выявить участки взаимодействия белковой матрицы и дополнительного хромофора. Это достижение стало основой для моделирования и предсказания структуры белков с улучшенной способностью связывать каротиноиды. Применение рационального дизайна белковых конструкций позволило получить новые варианты белков и протестировать их функциональную активность на практике, в том числе, охарактеризовать энергетические взаимодействия между хромофорами, фотоциклы и эффективность образования комплекса с помощью оптических методов, а также провести исследования электрофизиологических свойств

оптогенетических конструкций на основе двухкомпонентных родосинон на клеточных моделях. Полученные результаты создают фундаментальную основу для разработки новой оптогенетической платформы, обладающей рядом уникальных свойств за счет рационального использования дополнительного хромофора.

Получен ряд белков хроматина как в чистом виде, так и в виде комплексов с фрагментами ДНК с целью структурных исследований. Методами рентгеноструктурного анализа и малоуглового рентгеновского рассеяния установлены структуры целевых белков, позволившие прояснить механизмы функционирования этих белков и их роль в витальных процессах, происходящих в хроматине: репликации, транскрипции и репарации. Были разработаны и успешно апробированы методы компьютерного моделирования белков хроматина и их комплексов, в частности, нуклеосом с различным гистоновым составом и в различном ионном окружении, созданы их молекулярные модели и проведены расчеты методом молекулярной динамики. Были созданы и применены методы интегративного моделирования комплексов белков хроматина, нуклеосом, на основе данных малоуглового рассеяния рентгеновского излучения, с использованием данных методов созданы атомистические молекулярные модели, изучена динамика ДНК в нуклеосомах. На основе полученных данных была разработана методика по измерению методами малоуглового рассеяния рентгеновского излучения степени конформационной гетерогенности нуклеосом.

Исследованы структуры ряда новых флуоресцентных белков и белков на их основе, выявлены структурные детерминанты, модификация которых позволяет направленно менять свойства таких белков, важные для практического применения. Показана принципиальная возможность визуализации отдельных клеточных компартментов (или процессов) с использованием разработанных белков-зондов.

Получены структуры высокого разрешения, позволившие изучить и расшифровать механизмы спектральной настройки флавин-связывающих белков: были изучены как природные, так и искусственные варианты, и определены положения заряженных групп в окрестности хромофора. Одновременно с этим были установлены повреждения, вызываемые облучением кристаллов флавин-связывающих белков рентгеновскими лучами.

Комплексно структурно и функционально охарактеризована панель трансминаз, перспективных для биотехнологического синтеза хиральных синтонов. Полученные результаты проливают свет на молекулярные механизмы обеспечения определенной субстратной специфичности таких ферментов, что важно для модулирования спектра субстратов разрабатываемых биокатализаторов для использования в биотехнологических процессах. Установлены пространственные структуры ряда мультигеновых цитохромов, обеспечивающих электрон-транспортный перенос в клетках.

Проведено комплексное исследование белков из туберкулезной палочки, ответственных за обход иммунитета хозяина. Полученные структуры белков описывают взаимодействие этих белков с потенциальными лекарственными соединениями, а также их комплексы с белками-партнерами. Данное исследование открывает перспективы для разработки новых противотуберкулезных препаратов.

По направлению подготовки научных кадров для проведения синхротронных и нейтронных исследований были разработаны и успешно апробированы образовательные программы: «Применение синхротронных и нейтронных источников излучения для решения задач структурной биологии», «Basics of Synchrotron Radiation and Its Applications / Основы синхротронного излучения и его применения» и «Введение в методы синхротронных и нейтронных исследований биологических систем». В рамках этих программ проводились как лекционные, так и практические занятия, по результатам которых обучение успешно завершили 96 молодых специалистов.

В рамках проекта были успешно проведены работы по созданию сетевой синхротронной и нейтронной научно-исследовательской инфраструктуры на территории Российской Федерации. В частности, было проведено обновление инфраструктуры в части установок, отвечающих за характеризацию целевых белков, их кристаллизацию, а также обработку и хранение полученных экспериментальных 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 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.

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».

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.

8.3. Создание конкурентоспособного на мировом уровне научного коллектива

В коллектив консорциума входят известные ученые, привлекающие свою научную экспертизу и высокие компетенции в области структурной биологии и синхротронных и нейтронных исследований живых систем, для реализации задач проекта. Наибольшие Хирш-факторы участников коллектива составляют:

1. Гуськов А.В. – 36
2. Кирпичников М.П. – 33
3. Горделий В.И. – 29
4. Случанко Н.Н. - 28
5. Куклин А.И. - 26
6. Борщевский В.И. - 25
7. Попов В.О. - 24
8. Максимов Е.Г. - 24
9. Шайтан К.В. - 25
10. Шайтан А.К. - 19

Также коллектив поддерживает тесные отношения с рядом ведущих иностранных ученых, работающих в области структурной биологии в организациях, имеющих в распоряжении исследовательскую инфраструктуру, связанную с использованием синхротронного и нейтронного излучений. В рамках мероприятий по подготовке специалистов в области разработки, проектирования и строительства источников синхротронного и нейтронного излучения, а также научных кадров для проведения синхротронных и нейтронных исследований (разработок) в целях получения результатов мирового уровня с целью подготовки новых кадров для структурной биологии в ходе выполнения исследовательской программы реализованы новые, разработанные в рамках выполняемого проекта, дисциплины основных профессиональных образовательных программ, а также программа дополнительного профессионального образования.

8.4. Подготовка кадров и развитие кадрового потенциала

В рамках мероприятий по подготовке специалистов в области разработки, проектирования и строительства источников синхротронного и нейтронного излучения, а также научных кадров для проведения синхротронных и нейтронных исследований (разработок) в целях получения результатов мирового уровня с целью подготовки новых кадров для структурной биологии на втором этапе реализованы новые, разработанные в рамках выполняемого проекта, дисциплины основных профессиональных образовательных программ, а также программа дополнительного профессионального образования.

В учебный план седьмого семестра бакалавриата кафедры биофизики Физтех-школы Физики и исследований им. Ландау МФТИ (ЛФИ МФТИ) включена разработанная в рамках проекта дисциплина (модуль) “Введение в методы синхротронных и нейтронных исследований биологических систем”, в соответствии с рабочей программой дисциплины (модуля) от 06.12.2021 г., направление подготовки 03.03.01 - Прикладные математика и физика. Дисциплина является специализированным курсом профессионального цикла учебных дисциплин биофизического профиля обучения ЛФИ МФТИ.

Дисциплина (модуль) ориентирована на формирование компетенций при подготовке специалистов в областях физики, научная деятельность которых связана с использованием метода синхротронного излучения и излучения нейтронов для исследования биологических систем. В результате освоения дисциплины у обучающихся формируется общее понимание физических принципов синхротронного излучения и нейтронного излучения, взаимодействия излучения с биологическими объектами, а также формируются представления об использовании этих методов для решения задач структурной биологии, знакомство с различными источниками рентгеновского излучения и нейтронного излучения. Общая объем дисциплины (модуля) составляет 90 академических часов. В осеннем семестре 2022/2023 учебного года обучение, включающее прослушивание лекционных курсов и консультации в формате семинаров, по дисциплине (модулю) “Введение в методы синхротронных и нейтронных исследований биологических систем” прошли 16 обучающихся бакалавриата, а в учебному году 2023/2024 - 8.

В учебный план девятого семестра программы магистратуры “Integrated Structural Biology and Genetics / Интегрированная структурная биология и генетика” кафедры биофизики ЛФИ МФТИ включена разработанная в рамках проекта дисциплина (модуль) Основы синхротронного излучения и его применения / Basics of Synchrotron Radiation and Its Applications”, в соответствии с рабочей программой дисциплины (модуля) от 26.05.2022 г., направление подготовки 03.03.01 - Прикладные математика и физика. Дисциплина является специализированным курсом профессионального цикла учебных дисциплин биофизического профиля обучения ЛФИ МФТИ.

Дисциплина (модуль) ориентирована на формирование компетенций при подготовке специалистов в областях физики, научная деятельность которых связана использованием синхротронного излучения в качестве пользователя на выделенных пучках ускорительных комплексов, а также чья деятельность сопряжена с созданием и эксплуатацией пользовательских станций на источниках СИ. В результате освоения дисциплины у обучающихся формируется понимание основных физических принципов генерации и использования СИ в области биологии, медицины, химии, геологии, материаловедения, археологии и т.д., включая уникальные возможности, предоставляемые последними поколениями источников СИ. В заключительной части курса рассматриваются вопросы использования излучения лазеров на свободных электронах (FEL). Общая объем дисциплины (модуля) составляет 90 академических часов. В осеннем семестре 2022/2023 учебного года обучение, включающее прослушивание лекционных курсов и консультации в формате семинаров, по дисциплине (модулю) “Основы синхротронного излучения и его применения / Basics of Synchrotron Radiation and Its Applications” прошли 13 обучающихся программы магистратуры, а в учебном году 2023/2024 - 14.

На первом этапе выполнения проекта была разработана, а втором приняла первых слушателей дополнительная профессиональная образовательная программа "Применение синхротронных и нейтронных источников излучения для решения задач структурной биологии", которая направлена на совершенствование профессиональных компетенций, необходимых для выполнения следующих видов профессиональной деятельности в рамках имеющейся квалификации: 1) участвовать в проведении структурных исследований белков, белковых комплексов, сложных биополимерных структур; 2) планировать исследования с применением методов структурной биологии с использованием синхротронных и нейтронных источников. В рамках данной программы в МГУ были проведены лекционные занятия (56 ч) и практические занятия (32 ч), которые прошли в ФИЦ Биотехнологии РАН. В 2022 году обучение прошли 20 человек, а в 2023 году - 24 человека.

8.5. Создание сетевой синхротронной и нейтронной научно-исследовательской инфраструктуры на территории Российской Федерации (указывается, если исследовательская программа (проект) предусматривает реализацию данного мероприятия)

В рамках проекта были успешно проведены работы по созданию сетевой синхротронной и нейтронной научно-исследовательской инфраструктуры на территории Российской Федерации. В частности, было проведено обновление инфраструктуры в части установок, отвечающих за характеризацию целевых белков, их кристаллизацию, а также обработку и хранение полученных экспериментальных данных.

Благодаря развитию данного направления участникам Консорциума стали доступны новые методы исследования функциональной организации биологических систем с помощью оптических методов. Во-первых, был собран лазерный спектрометр, позволяющий регистрировать изменения интенсивности флуоресценции в ответ на вспышку длительностью 1 нс - 10 пс, в режиме счета фотонов. Данная установка была успешно использована для исследования фотоциклов ряда фотоактивных белков, исследования структуры которых осуществлялись в рамках проекта. Во-вторых, был разработан план и осуществлена сборка оптического криостата, совместимого с лазерным спектрометром. Данный криостат сочетает в себе возможности изучения свойств биологических макромолекул в широком диапазоне температур (от 2 до 330 К) с возможностью использования сверхпроводниковых детекторов единичных фотонов с высокой квантовой эффективностью в видимом и ИК-диапазоне. Сверхпроводниковые детекторы являются отечественной разработкой и не имеют аналогов в мире. И, в-третьих, была собрана и протестирована установка для регистрации флуоресценции единичных молекул в режиме синхронизированного чередующегося возбуждения донора и акцептора энергии. Такой режим был опробован на микроскопических объектах (клетки), растворах биологических молекул, и показал перспективность для одновременного получения трех изображений (донор, акцептор – прямое возбуждение и акцептор – сенсibilизированное) в режиме регистрации времени жизни флуоресценции. Были созданы/обновлены следующие установки:

1. Установка для исследования олигомерного состояния, массы и размеров частиц биологических макромолекул в растворе, которая основана на современной хроматографической системе с высоким давлением, обеспечивающей эффективное разделение частиц и снабженной многопараметрической детекцией, в том числе статического светорассеяния (MALS), флуоресценции, а также поглощения и рефрактометрии. Преимуществом установки является возможность одновременного исследования гидродинамических (размерных) характеристик и спектральных свойств изучаемых макромолекул, что необходимо для оценки их спектральной и механической чистоты перед проведением кристаллизационного скрининга. Для предкристаллизационного скрининга в качестве элементов инфраструктуры добавились установки для высокопоточного исследования термостабильности белковых объектов (в том числе для определения наибольшей стабильности в различных буферных средах), а также для измерения силы взаимодействия частиц, основанная на методе поляризации флуоресценции и необходимая для исследования комплексов.

2. Кристаллизационная платформа, предоставляющая возможность для проведения нанолитровых высокопроизводительных кристаллизаций. Эта платформа предлагает различные варианты для кристаллизации растворимых белков, включая классические методы сидячей и висячей капель, а также *in meso* кристаллизацию.

3. Модернизированная платформа для биофизической и функциональной характеристики белков, дооснащенная безметковым дифференциальным сканирующим флуориметром для анализа термостабильности белков, высокоэффективным жидкостным хроматографом для анализа гомогенности белковых препаратов, шейкером-инкубатором с опцией поддержания CO₂ для культивирования суспензионных эукариотических клеток, гель-документирующей системой для высокочувствительного флуоресцентного и люминесцентного анализа. Введена в эксплуатацию платформа для экспрессии сложных мембранных белков в человеческой суспензионной клеточной линии HEK293 для биофизической и функциональной характеристики.

Важно отметить, что обновленная инфраструктура доступна не только участникам Консорциума, но и заинтересованным отечественным научным организациям. Также в рамках работ по проекту проводилась работа по подготовке к запуску нового синхротронного источника СКИФ. Проводились (и планируют проводиться) научные консультации, касающиеся конкретной технической реализации конечных станций, пригодных для проведения исследований в области наук о жизни. Осуществляется системная работа с потенциальными будущими пользователями СКИФ на всех этапах проведения рентгеноструктурного эксперимента - планирование проекта, подготовка образцов, выполнение рентгеновского эксперимента и анализ полученных структурных моделей. Проводятся специализированные мастер-классы и школы для молодежи, повышающие интерес потенциальных специалистов к данной области исследований. Кроме того, консорциум осуществляет активную поддержку и развитие работы Российской группы биокристаллографии и МУРР, занимающейся организацией и сопровождением экспериментов на современных синхротронных источниках.

8.6. Приобретение за счет средств гранта и внебюджетных средств оборудования, материалов, информационных и других ресурсов

В рамках реализации первого этапа проекта за счет средств гранта было приобретено оборудование и материалы, необходимые для проведения подготовительных работ, включая материалы для проведения молекулярно-биологических работ и работ по получению целевых объектов исследования (киты для экспрессии, соли, кислоты, компоненты буферных растворов и пр.), кристаллизационные наборы для предварительного скрининга и оптимизации условий кристаллизации, кристаллографический инструментарий (сосуд Дьюара для транспортировки кристаллов при крио-температуре, инструменты для манипуляций с выращенными кристаллами, нейлоновые петли различного размера и пр.), а также лабораторный пластик и вспомогательные материалы для лабораторной работы. В части оборудования из средств гранта были приобретены, в частности, графические станции и отдельный графические карты для обработки полученных структурных данных, кельвинатор для хранения биомассы и очищенных целевых белков, микроскоп для контроля кристаллизации и манипуляций с выросшими кристаллами, термостаты для функциональных исследований, RT-PCR прибор для высокопоточного исследования термостабильности белков по методу ThermoFluor, пипетки и др.

В рамках выполнения гранта была существенно усилена платформа для высокопроизводительной *in meso* кристаллизации мембранных белков путем дооснащения высокопроизводительным кристаллизационным роботом Mosquito LCP от SPT Labtech, Мелборн (Великобритания). В настоящее время ожидается поставка прибора. Данный робот позволяет дозировать вязкую липидную мезофазу объемом от 25 нл и производить скрининг широкого диапазона кристаллизационных условий при минимальном потреблении белка. За счет внебюджетных источников проведено дооснащение платформы для биофизической и функциональной характеристики белков в МФТИ прибор Nanotemper Prometheus Panta. Данный прибор позволяет получать разностороннюю информацию о свойствах образцов, многопараметрического измерения конформационной стабильности белков на основе технологии nanoDSF с возможностью определения степени агрегации и размера белка методами светорассеяния. В настоящее время ожидается поставка прибора.

На 2 этапе приобретено оборудование, запланированное, в частности, в рамках работ по созданию сетевой синхротронной и нейтронной научно-исследовательской инфраструктуры на территории Российской Федерации. Была приобретена станция дозирования растворов (в рамках усовершенствования платформы кристаллизации макромолекул), оборудование для динамического светорассеяния - DLS от компании PhotoCor и прибор Contrast-Z для измерения радиусов частиц (в рамках усовершенствования установки для исследования олигомерного состояния и размера биомолекул в растворе).

Для реализации исследований 3 этапа была осуществлена закупка крупного высокотехнологичного оборудования, такого как: Модульная система для жидкостной хроматографии Agilent 1260 в комплекте, Микроскоп ADF X100, Система гидрофилизации PELCO easiGlow™ Glow Discharge Cleaning System, Автоклав вертикальный MVS-63, низкотемпературный криостат с детекторами единичных фотонов, а также прочее лабораторное оборудование, используемое для рутинных исследований и расходные материалы (реактивы, общелабораторный пластик и пластик специального назначения) для выполнения исследований методами молекулярной и структурной биологии.

Приложения:

- 1. Информационно-аналитическая справка о реализации исследовательской программы (проекта) за отчетный период**
- 2. Отчетные документы по Плану-графику работ, выполненных в рамках реализации исследовательской программы (проекта), за отчетный период**