

**ФЦП «ИССЛЕДОВАНИЯ И РАЗРАБОТКИ ПО ПРИОРИТЕТНЫМ  
НАПРАВЛЕНИЯМ РАЗВИТИЯ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО КОМПЛЕКСА НА  
2014-2020 ГОДЫ»**

Соглашение о предоставлении субсидии от 05.11.2015 г. № **14.587.21.0014**  
«РАЗРАБОТКА ПОДХОДА СЕРИЙНОЙ КРИСТАЛЛОГРАФИИ МЕМБРАННЫХ  
СВЕТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ ПРИ КОМНАТНОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ НА БАЗЕ  
ЕВРОПЕЙСКОГО ЦЕНТРА СИНХРОТРОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ»

**Этап 4. Заключительный. «Крупномасштабное производство белков-кандидатов, получение структуры целевых белков, определение функциональности полученных фотоактивируемых белков в нейрональных клетках»**

Объект исследования – светочувствительные ретиналь-связывающие белки, являющиеся базовыми инструментами оптогенетики.

Целью проекта является выявление и создание новых светочувствительных ретинальных мембранных белков со свойствами, необходимыми для оптогенетического контроля нервных клеток.

В проекте объединяются компетенции авторов в таких методах и методологиях исследований, как: рациональный скрининг базы данных аминокислотных последовательностей при поддержке компьютерного моделирования; геновая инженерия, экспрессия и очистка белков; функциональная характеристика в пробирке методами спектроскопии, в том числе методами флэш-фотолиза и спектроскопии одиночных молекул; крупномасштабное производство белков-кандидатов для изучения структуры; кристаллизация, кристаллография и решение кристаллографических структур белков; компьютерное моделирование белков.

*На четвертом этапе выполнения проекта* произведено крупномасштабное производство белков-кандидатов для структурных исследований. Произведена кристаллизация целевых белков. Проведено компьютерное моделирование и рациональный мутагенез, основанный на решенных структурах целевых белков.

В результате взаимодействия с иностранными партнерами были решены структуры целевых белков и произведены генетические конструкции для тестирования целевых белков в эмбриональных почечных клетках, что является обязательным подготовительным этапом отбора оптимальной генетической конструкции для трансдукции в нейроны. Также проведено компьютерное моделирование, основанное на знаниях о структуре. Продемонстрирована работоспособность изученных белков в модельных клетках млекопитающих, а также в первичной культуре нейронов.

Непосредственные результаты проекта найдут применение в фундаментальных исследованиях нейробиологии, а также создадут основу для медицинских применений. Сопутствующие наработки будут иметь самостоятельную важность для развития ряда научных областей, затронутых в проекте: будут разработаны биоинформатические методы поиска белков с заданными характеристиками; методы экспрессии ряда мембранных белков; подходы к получению переходных состояний белков (в том числе с использованием рентгеновских лазеров на свободных электронах); методы кристаллизации мембранных белков; методы компьютерного моделирования новых белков с нужными свойствами.

Проект также является значимым для развития оптогенетических исследований и их приложений, которые требуют создания панели

светоактивируемых белков с различными функциями как инструментов тонкой настройки нейронных процессов. Настоящий проект будет способствовать этому развитию, предоставляя светочувствительные транспортеры и каналы с новыми, крайне необходимыми свойствами. Результаты проекта создадут рациональную парадигму для исследований и инженерии таких оптогенетических инструментов.

Результаты работы и примерные методы нашли отражение в четырех публикациях за время выполнения проекта, включая две итоговые работы, опубликованные в 2017 году в журналах *Science* и *Science Advances*.