

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

Соглашение о предоставлении субсидии от 06.05.2016 г. № **14.587.21.0026**
«СЕРИЙНАЯ СИНХРОТРОННАЯ КРИСТАЛЛОГРАФИЯ МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ»

Этап 2. Заключительный. «Подготовка кристаллов рецепторов, сопряженных с G-белком»

Целью настоящего проекта являлось развитие научно-технического и технологического комплекса страны в области структурной биологии путем разработки подхода к серийной кристаллографии мембранных белков для получения структур фармакологически важных мембранных белков с использованием набора кристаллов небольшого размера, а также получения структур мембранных белков в активированных состояниях.

На втором этапе проекта объектом исследований и разработки, являлись рецепторы, сопряженные с G-белками (GPCR).

В рамках используемой в данной работе методологии осуществлялась подготовка кристаллов GPCR. Фармакологическая важность исследований была обеспечена тем фактом, что исследуемые объекты вовлечены в процессы развития воспалительных процессов в организме человека. Исследование включало в себя работы по получению генетических конструкций целевых белков для проведения экспрессии в Sf9, их дальнейшую экспрессию и очистку, функциональную характеризацию и кристаллизацию методом *in meso*.

Дальнейшие работы проводились совместно с иностранным партнером и включали в себя проведение экспериментов по сбору дифракционных данных с кристаллов GPCR небольшого размера и получение трехмерных структур целевых белков GPCR. Работы проводились на установках ID29 и ID30b Европейского центра синхротронных исследований (Гренобль, Франция).

В работе разработаны методы получения белковых кристаллов мембранных белков, а также подходы к получению структур высокого разрешения с набора кристаллов небольшого размера на современных концевых станциях синхротронов третьего поколения. В конечном итоге получены три структуры GPCR с разрешением выше 3Å. Качество полученных кристаллографических данных оказалось достаточно для того, чтобы надежно идентифицировать положение лиганда в активных центрах молекул.

Областью применения данного исследования является структурная биология. Разрабатываемые подходы служат получению структур белков с набора кристаллов при криогенных температурах на концевых станциях синхротронов третьего поколения в случаях, когда качество дифракции отдельных кристаллов недостаточно для сбора полного набора данных.

Одним из важнейших факторов значимости этапа проекта, является его связь с разработкой лекарств для контроля иммунных процессов в организме человека, включая развитие астмы. Получаемая в проекте структурная информация может служить созданию эффективных лекарственных препаратов с минимальным побочным действием.

Развитие метода серийной кристаллографии белков вносит чрезвычайно важный вклад в совершенствование рентгеноструктурного анализа на синхротронных источниках излучения и рентгеновских лазерах на свободных электронах.