

Резюме проекта, выполняемого

в рамках ФЦП

«Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 – 2020 годы»

по этапу № 4/итоговый

Номер Соглашения о предоставлении субсидии: 14.587.21.0011

Тема: «Новые светуправляемые каналы и транспортеры для оптогенетического контроля нейронов и исследований мозга»

Приоритетное направление: Науки о жизни (НЖ)

Критическая технология: Биокаталитические, биосинтетические и биосенсорные технологии

Период выполнения: 21.08.2015 - 31.12.2017

Плановое финансирование проекта: 17.10 млн. руб.

Бюджетные средства 8.55 млн. руб.,

Внебюджетные средства 8.55 млн. руб.

Получатель: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Московский физико-технический институт (государственный университет)"

Иностранный партнер: Институт структурной биологии

Ключевые слова:

1. Цель проекта

1.1. Реализация проекта направлена на выявление и создание новых светочувствительных ретинальных мембранных белков со свойствами, необходимыми для оптогенетического контроля нервных клеток.

1.2. В результате выполнения проекта существующие знания в области понимания функций фотоактивируемых мембранных белков будут существенно дополнены новыми примерами и моделями для рационального конструирования белка. В рамках проекта планируется создать новые оптогенетические инструменты актуальные для биомедицины.

2. Основные результаты проекта

2.1. Получены препараты целевых белков-кандидатов, определенных и охарактеризованных на 2 и 3 этапах проекта. Общее количество каждого наработанного белка (дикого типа) превышает 50 мг.

2.2. Получены кристаллы белков, размер кристаллов превышает 10 мкм. Кристаллы пригодны для рентгеноструктурного анализа.

2.3. Получены кристаллографические структуры целевых белков-кандидатов. Разрешение структур MacR -- 1.8Å, ксенородопсина XeR -- 2.2Å. Обе лучше 3.5Å.

2.4. Получены мутантные формы натриевых насосов, которые прокачивают ионы калия.

2.5. Целевые белки-кандидаты демонстрируют работоспособность в модельных клетках млекопитающих и первичных клетках нейронов.

2.6. Получаемые в ходе работ результаты обладают научной новизной, поскольку в настоящее время существует принципиальная потребность экспериментаторов в новых фотоактивируемых инструментах, которые расширят возможности управления нейронами и их сетями, изучения нервных импульсов.

2.7. В рамках проекта создались новые оптогенетические инструменты актуальные для биомедицины. Проведен поиск и создание новых светочувствительных каналов и транспортеров с использованием двух взаимодополняющих подходов: идентификация новых белков или определённых мутантных белков с помощью анализа эволюции родопсинов из разных видов и типов; молекулярно-динамическое моделирование процессов проникновения и транспорта, происходящих в светочувствительных каналах и транспортерах с известной кристаллической структурой для того, чтобы получить более глубокое понимание механизмов, лежащих в основе ионного транспорта и для системного прогнозирования мутаций на рациональной основе. Объединение этих стратегий привело к успешной функциональной экспрессии новых родопсинов, которые в дальнейшем найдут применение в исследовательских и медицинских приложениях.

3. Охраноспособные результаты интеллектуальной деятельности (РИД), полученные в рамках прикладного научного

4. Назначение и область применения результатов проекта

4.1. Непосредственные результаты проекта найдут глобальное применение в прикладных исследованиях в нейронауках, являющихся одними из самых интенсивно развивающихся научных направлений большинства индустриально развитых стран. К прикладным аспектам относятся перспективы применения результатов для следующего применения: разработки новых лекарственных средств для лечения заболеваний головного мозга, зрительных дисфункций; созданию нового поколения протезов, управляемых светом; использованию технологий оптогенетики для лечения сердечно-сосудистых заболеваний за счет управления светом двигательной активности гладкой мускулатуры сердца (использование оптогенетики для задания ритмической активности); получение новых данных для развития области суперкомпьютеров, робототехники за счет раскрытия основных способов реализации свойств и функций человеческого мозга – создание карт взаимосвязей между нейронами, отдельными частями мозга, в результате чего формируется конечный физиологический акт.

4.2. Конкретные результаты проекта - определение структуры натриевых помп - позволят разработать подходы для создания новых ионных насосов для целей оптогенетики, а также новые инструменты, нацеленные на точный контроль событий, происходящих внутри нейронных сетей с уникальными характеристиками.

4.3. 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.

5. Эффекты от внедрения результатов проекта

Проект обладает существенной значимостью для развития нового поколения высокоэффективных терапевтических методов лечения неврологических нарушений.

Задача разработки новых направлений для лечения неврологических заболеваний чрезвычайно актуальна в современном обществе. Отчет всемирной организации здравоохранения "Неврологические заболевания: общественный вызов" утверждает, что из миллиарда людей, 50 млн больны эпилепсией и 24 млн страдает от болезни Альцгеймера и других форм деменции.

Нейрозаболевания поражают людей во всех странах, вне зависимости от возраста, пола, образования и достатка, нанося, помимо всего прочего, значительное экономическое бремя на общество. В настоящее время применение оптогенетики в медицине для лечения тяжелых заболеваний и расстройств, таких как, например, болезнь Паркинсона, эпилепсия, наркомания, депрессия, расстройство сна, боли и шизофрения лежит в плоскости обширных передовых исследований.

Таким образом, область науки оптогенетики мозга смещается от чисто академической дисциплины к разработке высокоэффективных методов вмешательства в мозговые процессы и лечения определенных патологических процессов.

6. Формы и объемы коммерциализации результатов проекта

6.1. Механизмом коммерциализации разрабатываемой технологии является разработка технических решений, а также выполнение заказных научно-исследовательских работ, задачами которых являются: поиска белков с заданными характеристиками с использованием биоинформатических методов; экспрессия мембранных белков; определение переходных состояний белков; кристаллизация мембранных белков; решение структуры белков мишеней, в том числе в переходных и активированных состояниях; моделирование новых белков с нужными свойствами методами компьютерного моделирования.

6.2. В качестве конечного продукта будут получены светочувствительные транспортеры и каналы с новыми свойствами и функциями, применимые как инструменты тонкой настройки нейронных процессов.

7. Наличие соисполнителей

7.1. Проект выполняется с привлечением иностранных партнерских организаций (Institut de Biologie Structurale, (IBS, Франция); Institute of Complex Systems-6: Structural Biochemistry, Research Center Juelich (ICS-6, Германия) и Max Planck Institute of Biophysics (MPI, Германия).

7.2. В 2015 году к выполнению проекта привлечен иностранный партнер Institut de Biologie Structurale, (IBS, Франция). Партнером выполнен рациональный скрининг базы данных аминокислотных последовательностей, а также с учетом данных по анализу классов сенсорных и канальных родопсинов, при поддержке компьютерного моделирования, идентифицированы консервативные аминокислотные остатки в определенных позициях и выполнен анализ протонных помп, хлорных и натриевых насосов. Это позволило выявить перспективных кандидатов новых светочувствительных протонных и ионных каналов и насосов, представляющих потенциальный интерес для оптогенетики (определены потенциальные целевые белки).

7.3. В 2016 году к выполнению проекта привлечен иностранный партнер Institute of Complex Systems-6: Structural Biochemistry, Research Center Juelich (ICS-6, Германия). Партнером проведена сборка генетических конструкций и функциональная

экспрессия в *Escherichia coli*, содержащих следующие белки: натриево-протонные гибридные светочувствительные насосы (NaR), предполагаемые сенсоры (XeR), безлизиновые родопсины с недокументированной функцией (Q-Rh). Проведена очистка и стабилизация ряда белков, представителей класса натриево-протонных гибридных светочувствительных насосов (NaR). Произведен биоинформатический подбор лидерных последовательностей, которые увеличивают вероятность встраивания целевых белков в плазматическую мембрану эукариотических клеток. Проведена функциональная очистка белков NaR, XeR, MacR и их мутантных форм. Проведены исследования стабильности белков и их мутантных форм.

7.3. В 2017 году к выполнению проекта привлечен иностранный партнер Institut de Biologie Structurale, (IBS, Франция). Партнером был проведен рентгеноструктурный анализ и решены структуры трех целевых белков. Также произведены генетические конструкции для тестирования целевых белков в эмбриональных почечных клетках, что является обязательным подготовительным этапом отбора оптимальной генетической конструкции для трансдукции в нейроны и будет использовано на следующем этапе выполнения проекта. Вторым партнером Max Planck Institute of Biophysics (MPI, Германия) в 2017 продемонстрирована работоспособность белков в модельных клетках млекопитающих и первичных клетках нейронов.

федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Московский физико-технический институт (государственный университет)"

проректор

(должность)

(подпись)

Гаричев С.Н.

(фамилия, имя, отчество)

Руководитель работ по проекту

главный научный сотрудник (в области биологии)

(должность)

(подпись)

Бюльдт Г.Д.

(фамилия, имя, отчество)

М.П.