

## Резюме проекта, выполняемого

в рамках ФЦП

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

по этапу № 3

Номер Соглашения о предоставлении субсидии: 14.587.21.0011

Тема: «Новые светоуправляемые 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: Institut de Biologie Structurale, Centre National de la Recherche Scientifique

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. Выполнен обзор и анализ современной научно-технической и методической литературы по спектроскопической характеристике *in vitro* препаратов белков, методами спектроскопии успешно проведена функциональная характеристика *in vitro* целевых белков, отобранных на первом этапе выполнения проекта.

2.2. Экспериментально получены спектры поглощения родопсина MacR и ксенородопсина XeR с шагом 1 нм.

2.3. Экспериментально получены спектры поглощения свето- и темно- адаптированных состояний ксенородопсина.

2.4. Экспериментально получена зависимость спектров поглощения родопсина MacR от pH окружающего буфера.

2.5. Продемонстрирован ионный транспорт, осуществляемый родопсином MacR и ксенородопсином XeR в живых клетках *Escherichia coli* и липосомах.

2.6. Отработана методика встраивания белков-кандидатов в липидные системы.

2.7. Определены характеристики фотоцикла, предложены модели фотоциклов родопсина MacR (и его трех мутантов), ксенородопсинов XeR (и его двух мутантов) и другого представителя семейства XeR-C117.

2.8. Обобщенные численные данные о результатах характеристики родопсина MacR и ксенородопсина XeR.

2.9. 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.

2.10. В рамках проекта создаются новые оптогенетические инструменты актуальные для биомедицины. Ведется поиск и создание новых светочувствительных каналов и транспортеров с использованием двух взаимодополняющих подходов: идентификация новых белков или определенных 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 приведет к успешной функциональной экспрессии для многих новых

родопсинов, которые в дальнейшем будут созданы и изучены в рамках проекта.

2.11. Выполненный перечень результатов соответствует требованиям к работам и их результатам на данный этап и позволяет обеспечить выполнение последующих этапов работы.

### **3. Охраноспособные результаты интеллектуальной деятельности (РИД), полученные в рамках прикладного научного исследования и экспериментальной разработки**

Охраноспособные результаты РИД за отчетный период созданы не были.

### **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, налагая, 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 шизофрении 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.

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

\_\_\_\_\_  
проректор

(должность)

\_\_\_\_\_  
(подпись)

\_\_\_\_\_  
Аушев Т.А.-Х.

(фамилия, имя, отчество)

**Руководитель работ по проекту**

\_\_\_\_\_  
главный научный сотрудник (в области биологии)

(должность)

\_\_\_\_\_  
(подпись)

\_\_\_\_\_  
Бюльдт Г.Д.

(фамилия, имя, отчество)

**М.П.**