

# **ФЕДЕРАЛЬНАЯ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКАЯ ПРОГРАММА РАЗВИТИЯ СИНХРОТРОННЫХ И НЕЙТРОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ИНФРАСТРУКТУРЫ НА ПЕРИОД ДО 2030 ГОДА И ДАЛЬНЕЙШУЮ ПЕРСПЕКТИВУ**

**Соглашение о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий в соответствии с пунктом 4 статьи 78.1 Бюджетного кодекса Российской Федерации от 30.05.2025 г. № 075-15-2025-452**

## **ОТЧЕТ О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ**

### **ПРИМЕНЕНИЕ СИНХРОТРОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ДЛЯ ВИРУСОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ЦЕЛЯХ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ (Промежуточный, 1 этап)**

#### **РЕЗЮМЕ ОТЧЕТА**

Целью настоящей научно-исследовательской программы являлось проведение синхротронных исследований для изучения структур вирусных белков, в том числе новых и недавно обнаруженных вирусов, молекулярных механизмов взаимодействия потенциальных противовирусных препаратов с вирусными белками, механизмов воздействия вирусов на организм, разработка трансгенных онколитических вирусов и методов для синхротронной микротомографии лабораторных животных и анализа вирусных биомолекул, а также создание высококвалифицированного научного коллектива для проведения синхротронных исследований и получения результатов мирового уровня на базе отчетных технологий.

В работе исследованы шесть ранее сконструированных рекомбинантных онколитических вирусов, экспрессирующих трансгены симпортера йодида натрия мыши (mNIS) и онкотоксических белков под контролем ранне-позднего и позднего P11 промоторов. Такой подход используется нами с целью оптимизации экспрессии mNIS в раковых клетках человека и выбора наиболее эффективной пары «онколитический вирус/тип опухоли человека» для последующей тераностики опухоли.

Разработана и аттестована «Методика (метод) измерений при количественном определении йода в образцах раковых клеток и ксенографтов опухолей методом рентгенофлуоресцентного анализа с использованием синхротронного излучения» (РФА-СИ) № Z-1/3856-(RA.RU.320244)-2025 от 19.12.2025. При помощи РФА-СИ была осуществлена сравнительная оценка накопления нерадиоактивного йода *in vitro* в опухолевых клетках, инфицированных рекомбинантными онколитическими вирусами VV-mNIS-Apo и VV-P11mNIS-Apo. Анализ показал, что концентрация нерадиоактивного йода значительно выше в опухолевых клетках культуры A431, инфицированных штаммом VV-P11mNIS-Apo, чем в клетках, инфицированных штаммом VV-mNIS-Apo и клетках контрольной группы. Исследование накопления нерадиоактивного йода *in vivo* в ксенографтах опухоли A431, подкожно трансплантированной иммунодефицитным мышам, при виротерапии рекомбинантным штаммом VV-P11mNIS-Apo, показало, что у мышей подвергавшихся виротерапии, концентрация йода в опухолях достоверно выше, чем в контрольной группе, не получавшей лечение рекомбинантным штаммом. Эти данные подтверждают высокий тераностический потенциал VV-P11mNIS-Apo и открывают путь к персонализированному комбинированному лечению с визуализацией ответа на терапию.

Разработан оригинальный алгоритм анализа дифракционных данных в экспериментах по визуализации отдельных объектов (SPI) на рентгеновских лазерах, включая коррекцию фонового сигнала детектора, и намечены приоритетные направления для будущих работ. Создан pH- и химически стабильный флуоресцентный белок LSSmScarlet4 с

улучшенной фотостабильностью. Получены и охарактеризованы комплексы антигена вируса лихорадки Западного Нила с антителом: DIII-scFv9E2 и DIII-his-scFv9E2. Показано, что гистидиновый тег индуцирует агрегацию, затрудняя структурный анализ, тогда как стехиометрия 1:1 подтверждена эксклюзионной хроматографией и методом малоуглового рентгеновского рассеяния (МУРР). Разработана биомедицинская технология гуманизации флавивирусного антитела 10H10. Технология достигла стадии готовности, позволяющей осуществить плановый переход к внедрению и промышленному освоению на базе индустриального партнера.

Определены и депонированны в PDB высокоразрешенные кристаллические структуры основной протеазы SARS-CoV-2 в комплексе с двумя новыми ингибиторами. Оба соединения ковалентно связываются с Cys145 и образуют уникальную галогенводородную связь с основной цепью Cys44, демонстрируя обширные гидрофобные взаимодействия. Эти данные открывают перспективу разработки высокоэффективных противовирусных препаратов и сопоставимы по значимости с лучшими мировыми аналогами.

В работе впервые получены структурные данные нуклеопротеинов (N) новых вирусов Songling virus (SGLV), Beiji nairovirus (BJNV) и Yezo virus (YEZV), ассоциированных с лихорадкой у людей. Экспериментальные данные подтвердили предсказанную с помощью ИИ двухдоменную организацию BJNV N и SGLV N в растворе: глобулярная головка и вытянутая асимметричная область. Суперпозиция МУРР-форм с моделями AlphaFold 3 показала высокое совпадение для глобулярного домена, тогда как вариативность положения стебля отражает его динамическую природу и функциональную роль в олигомеризации. Аналогично, для YEZV N впервые определена низкоразрешенная пространственная форма первого домена. Эти результаты открывают новое понимание структурной основы репликации этих малоизученных, потенциально опасных вирусов и демонстрируют мощь интеграции ИИ и синхротронных методов.

Впервые получены и охарактеризованы ключевые белки нового патогена, вируса Ха-секи (HSTV), представляющего потенциальную угрозу для общественного здравоохранения. Из-за крайне низкой гомологии его полипротеина с известными вирусами экспериментальное изучение структуры его компонентов имеет первостепенное значение. Выделен первый структурный белок (SP1) HSTV, идентифицированный как не имеющих близких аналогов по структуре вирусный белок. Также впервые получен рекомбинантный неструктурный белок NS3 геликазы HSTV. Эти достижения закладывают основу для понимания молекулярной биологии HSTV и разработки терапевтических стратегий против этого малоизученного вируса.

Для другого нового вируса с нетипичной организацией генома, Kindia tick virus (KITV), были синтезированы 20 вариантов нетранслируемых регионов (UTR) РНК двух штаммов. Для двух из них успешно получены комплексы с модельным белком оболочки фага MS2. Данные МУРР подтверждают, что использование системы «MS2-тегинга» является оправданным подходом к структурному анализу UTR РНК KITV, несмотря на высокую сложность экспериментального определения пространственной структуры РНК. Это особенно важно, поскольку UTR играют ключевую роль в жизненном цикле вирусов, а их структурное изучение открывает возможности для разработки антивирусных стратегий.

В работе получены отечественные приспособления для *in situ* рентгеноструктурного анализа кристаллов без извлечения из маточного раствора. На основе систематического обзора существующих устройств разработаны два прототипа оригинальных простейших приспособления, с помощью которых определены высококачественные структуры моногидрата креатина на лабораторном дифрактометре и лизоцима на Шанхайском синхротроне в маточном растворе. Результаты подтверждают эффективность подхода, выявляют его ограничения и открывают возможности для дальнейшей оптимизации под российские источники синхротронного излучения.

Разработана новая дополнительная образовательная программа «Установки класса мегасайенс для биологии: возможности, инфраструктура, стратегии эффективного использования в исследовательских проектах». Проведена IV Школа молодых ученых

«Применение синхротронного излучения для решения задач биологии», в которой приняли участие более 60 молодых ученых из 22 организаций.

Все мероприятия, заявленные в плане-графике работ на 2025 год, выполнены в полном объеме и соответствуют мировому уровню.