

ФЕДЕРАЛЬНАЯ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКАЯ ПРОГРАММА РАЗВИТИЯ СИНХРОТРОННЫХ И НЕЙТРОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ ИНФРАСТРУКТУРЫ НА 2019-2027 ГОДЫ

Соглашение о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий в соответствии с пунктом 4 статьи 78.1 Бюджетного кодекса Российской Федерации от 12.10.2021 г. № 075-15-2021-1355

**ОТЧЕТ
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ**

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИНХРОТРОННОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
ДЛЯ ВИРУСОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
(Заключительный)**

РЕФЕРАТ

Отчет 620 стр., 283 рис., 43 табл., 418 источников

СИНХРОТРОННОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ, БЕЛКОВАЯ КРИСТАЛЛОГРАФИЯ, РЕНТГЕНОГРАФИЯ ЖИВОТНЫХ, ОНКОЛИТИЧЕСКИЕ ВИРУСЫ, РЕКОМБИНАНТНЫЕ ВИРУСНЫЕ БЕЛКИ, ПРОТИВОВИРУСНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Новые и вновь возникающие инфекционные вирусные заболевания угрожали человечеству на протяжении всей его истории, например, натуральная оспа долгое время занимала одно из первых мест среди инфекционных заболеваний из-за высокой смертности и инвалидизации переболевших, или же новая коронавирусная инфекция COVID-19, которая уже в наше время унесла почти 7 миллионов человеческих жизней. Для ускоренной разработки вакцин и противовирусных препаратов важно получить детальные знания о пространственной структуре вирусных белков и их комплексов, формирующихся при инфицировании организма человека вирусами, а для качественного проведения клинических и доклинических испытаний важен своевременный подбор чувствительных животных моделей и изучение с их помощью патогенеза инфекционного заболевания. Все эти исследования могут быть проведены с использованием нового мощного исследовательского инструмента – источника синхротронного излучения. В ходе выполнения исследовательской программы были получены основные, перечисленные ниже результаты.

Сконструированы три рекомбинантных варианта вируса осповакцины штамма Л-ИВП – VV-mNIS-NS1, VV-mNIS-Apo и VV-mNIS-dGF, несущих встройку трансгена симпортера йодида натрия мыши (mNIS). Полученные рекомбинантные вирусы осповакцины обладают противоопухолевой и антималярийной активностью в отношении карциномы толстой кишки мыши и меланомы B-16. Проведены рентгеноскопические исследования мышечных аллографтов B16-F10 в процессе виротерапии рекомбинантом VV-NIS-NS1

на синхротроне ВЭПП-4М в ИЯФ СО РАН в режиме фазового контраста и при контрастировании йодом. В режиме фазового контраста визуализированы границ опухоли, а при использовании йодсодержащего препарата – четко видны ткани и органы мышей. Методом рентгенофлуоресцентного элементного анализа опухолей с использованием синхротронного излучения показано накопление нерадиоактивного йодида в подкожных ксено- и аллогraftах клеток опухолей *in vivo*. Отработанные методы будут в дальнейшем использоваться для изучения тонких механизмов патогенеза вируса на модельных животных и терапии онкологических заболеваний.

Разработано несколько продуцентов вирусных белков, в том числе белков новых вирусов, произведена их наработка в про- и эукариотических системах. Методом малоуглового рассеяния изучен комплекс RBD домена S-белка с антителом DA-НМС и уточнено взаимное расположение мономерных частей полноразмерного S-белка. Проведены эксперименты по кристаллизации основной протеазы 3CL SARS-COV-2, пикоранина 3С риновируса А28, домена III вируса лихорадки Западного Нила, белка Е вируса клещевого энцефалита и др. Получены дифракционные данные от кристаллов комплексов основной протеазы 3CL SARS-COV-2 с ингибиторами со средним разрешением, установлен сайт связывания ингибиторов. Проведены предварительные структурные исследования пикоранина 3С риновируса А28, белка Е вируса клещевого энцефалита, домена III вируса лихорадки Западного Нила. Получены синхротронные дифракционные данные белка Е вируса клещевого энцефалита с разрешением 3.02 Å. Синтезирована трансмембранная область протонного канала М2 вируса гриппа твердофазным методом, охарактеризован специфический ингибитор белка. Проведен анализ модельных структурных данных протонного канала М2 вируса гриппа для разработки и оптимизации структурной формулы ингибитора М2-канала. Методом КриоЭМ определены и оптимизированы условия пробоподготовки образцов рекомбинантного тримера S-белка SARS-CoV-2. Осуществлен поиск новых потенциальных Т- и В-клеточных эпитопов к спайковому белку SARS-CoV-2. Проведено предварительное моделирование биохимических, фармакокинетических и токсикологических свойств протипа пептидной вакцины от SARS-CoV-2 с использованием биоинформатики. КриоЭМ-исследованием показано, что гликобелок ВИЧ-1 подвержен агрегации. Для ряда амидов производных бензойной кислоты, содержащих адамантановый фрагмент, и производных 2-арилимидазолов, содержащих различные заместители, для которых показана противовирусная активность, получены монокристаллические образцы и проведены рентгеноструктурные исследования. Проведён поиск возможных полиморфных и сольватоморфных модификаций отобранных противовирусных соединений, найдены условия получения двух гидратов, расшифрованы, описаны и депонированы их структуры. Таким образом получены фундаментальные основы механизма работы некоторых вирусов, представляющих

эпидемиологическую угрозу для человека, позволяющие разработать новые антивирусные стратегии.

Разработаны и введены в эксплуатацию две метрологические синхротронные методики и две биомедицинские технологии.

Созданы и модернизированы две научные лаборатории: Учебно-методический центр «Кристаллизация» и лаборатория синхротронных исследований в вирусологии.

Разработаны образовательные программы и проведены два курса повышения квалификации, школа молодых ученых, различные стажировки сотрудников, обучение методам белковой кристаллографии и хроматографической очистки белков. Обучено более 200 молодых специалистов.

Все мероприятия, заявленные в плане-графике работ на 2021-2023 года, выполнены в полном объеме и соответствуют мировому уровню. Сведения о ходе выполнения проекта размещены по адресу: <http://vector.nsc.ru/fcp>.