

## **Сведения о ходе выполнения проекта по теме «Создание макета функциональной системы скрининга противоопухолевых препаратов на основе анализа PARP1»**

Тема проекта: «Создание макета функциональной системы скрининга противоопухолевых препаратов на основе анализа PARP1»

Соглашение о предоставлении Субсидии № 14.604.21.0063 от 27 июня 2014 года

Приоритетное направление: Науки о жизни

Критическая технология: 5 Геномные, протеомные и постгеномные технологии

Период выполнения: 01.07.2015 - 31.12.2015

Исполнитель: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова" (Биологический факультет), руководитель – ведущий научный сотрудник кафедры биоинженерии Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, дбн Студитский Василий Михайлович

Индустриальный партнер: Общество с ограниченной ответственностью «Компания Хеликон»

### **1. Цель прикладного научного исследования и экспериментальной разработки**

1.1. Разработка новых методических подходов для исследований транскрипционного фактора PARP1, являющегося мишенью действия противоопухолевых препаратов.

1.2. Предоставление научно-исследовательским организациям новых и эффективных методов и средств проведения исследований в области изучения механизмов транскрипции и, в частности, транскрипционных факторов, задействованных в механизмах канцерогенеза.

1.3. Получение значимых научных результатов по механизму действия PARP1 при транскрипции хроматина, позволяющих переходить к созданию новых видов научно-технической продукции (функциональной системы скрининга противоопухолевых препаратов, ингибирующих активность PARP1).

1.4. Создание обобщенной модели действия PARP1 методами компьютерного моделирования на основе полученных экспериментальных данных и на основе систематизации научно-технической литературы.

1.5. Получение макета функциональной системы скрининга противоопухолевых препаратов на основе анализа белкового фактора PARP1.

### **2. Основные результаты проекта, полученные на третьем этапе**

Разработаны флуоресцентные методы идентификации и определения структур ключевых интермедиатов, формирующихся в присутствии PARP1: методами FRET. Проведен дизайн и созданы матрицы функциональной системы скрининга противоопухолевых препаратов на основе анализа PARP1. Создана база данных, содержащая информацию об ингибиторах PARP1 (<http://parp1inhibitors.ru/>). Проведено компьютерное моделирование молекулярных поверхностей, задействованных во взаимодействии с PARP1. Разработан лабораторный технологический регламент получения функциональной системы скрининга противоопухолевых препаратов на основе анализа белкового фактора PARP1, включающего: методику анализа ключевых интермедиатов, формирующихся в присутствии PARP1 биохимическими и молекулярно-генетическими методами; методику анализа ключевых интермедиатов, формирующихся в присутствии PARP1 флуоресцентными методами. Были получены экспериментальные образцы ЭО№№1-4, содержащие высокоочищенные компоненты: гистоновые белки, ДНК-матрицу, РНК-полимеразный комплекс, введенную молекулярную мишень – PARP1. Разработана программа и методики исследовательских испытаний экспериментальных образцов. Проведены испытания экспериментальных образцов ЭО №№1-4 в соответствии с Программой и методиками исследовательских испытаний. По результатам анализа образцы группы ЭО№1 и группы ЭО№4 выбраны в качестве прототипа для создания функциональной системы скрининга ингибиторов PARP1. На дальнейших этапах будет проведена экспериментальная оценка пригодности данных образцов для анализа действия ингибиторов PARP1. Проведены дополнительные патентные исследования. Проведены необходимые мероприятия по достижению заданных значений программных индикаторов. Результаты проведенной работы были представлены индустриальным партнером в виде постеров на 11 мероприятиях по демонстрации и популяризации результатов и достижений науки (отчет о мероприятиях представлен отдельным документом).



Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова  
 «Создание макета функциональной системы скрининга  
 противоопухолевых препаратов на основе анализа PARP1»  
 Соглашение о предоставлении субсидии №14.604.21.0063  
 от 27 июня 2014 г.

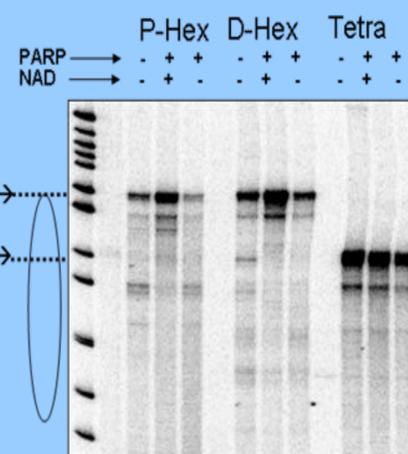
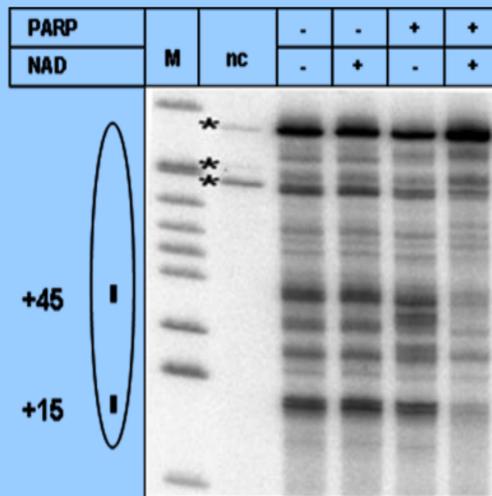


Индустриальный партнер проекта – ООО «Компания Хеликон»  
 В.М.Студитский (руководитель проекта),

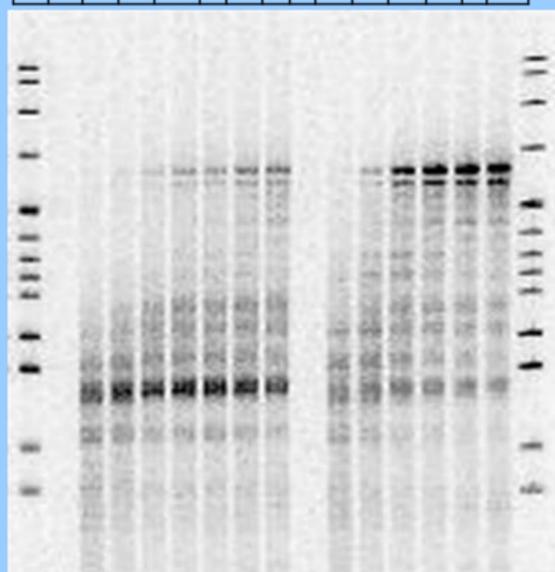
Фермент поли(АДФ-рибозо)полимераза 1 (PARP1) является одной из перспективных молекулярных мишеней для поиска противоопухолевых лекарственных соединений. Существующие ингибиторы PARP1 являются никотинамидными миметиками, т.е. ориентированы на связывание с каталитическим доменом PARP1 и конкуренцию с НАД+, что обуславливает их повышенную токсичность в клинических испытаниях. Другой проблемой является безопасность длительного применения существующих ингибиторов PARP1. Все это в целом, определяет актуальность поиска ингибиторов PARP1 с пониженной токсичностью.

**Результаты исследовательской работы**

Были получены экспериментальные образцы ЭОН№1-4. ЭО группы 1 представляют собой бесклеточную систему транскрипции *in vivo*, в которой присутствует фактор PARP1. Анализ в данной системе проводится с помощью биохимического анализа продуктов транскрипции (меченных изотопной меткой) в ПААГ в денатурирующих условиях. ЭО группы 2 представляют собой бесклеточную систему транскрипции *in vivo*, в которой присутствует фактор PARP1. Анализ в данной системе проводится с помощью биохимического анализа методом ДНКза1 футпринтинга с последующим ПААГ в денатурирующих условиях. ЭО группы 3 представляют собой бесклеточную систему транскрипции *in vivo*, в которой присутствует фактор PARP1. В отличие от ЭОН№1 и ЭОН№2, в данной системе проводят кинетические измерения при помощи прибора KinTek на временах 3", 10", 45", 2', 5', 10'. Анализ в данной системе проводится с помощью биохимического анализа продуктов транскрипции (меченных изотопной меткой) в ПААГ в денатурирующих условиях. Экспериментальные образцы группы 4 представляют собой системы, меченные не изотопной, а флуоресцентной меткой и предназначенные для проведения FRET анализа экспериментальных образцов по исследованию связывания PARP1 с нуклеосомой. Проведены испытания экспериментальных образцов группы 1-4 в соответствии с Программой и методиками исследовательских испытаний (данные на рисунках).

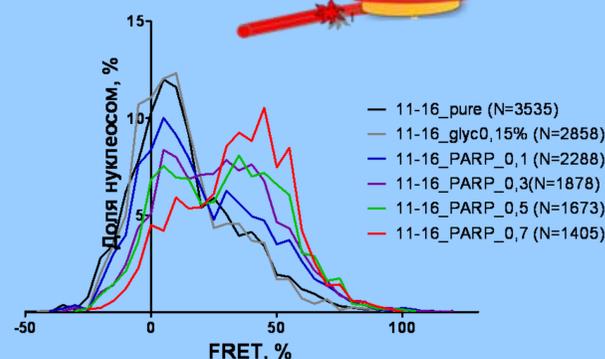
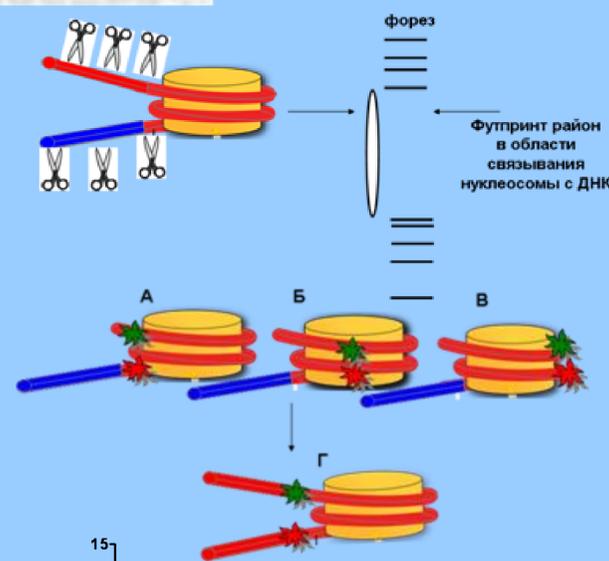
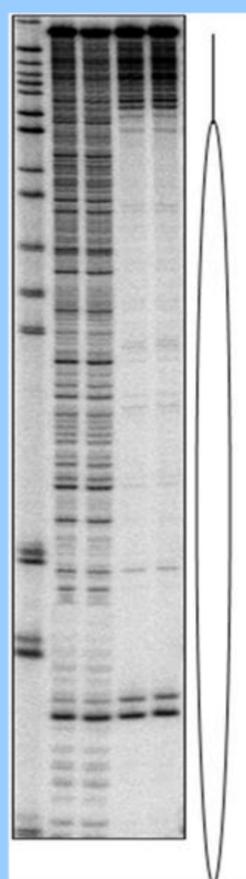


M	Control							PARP						
	-	3"	10"	45"	2'	5'	10'	-	3"	10"	45"	2'	5'	10'



← K  
 J (+121 и +133)  
 I (+97 и +109)  
 H (+73)  
 G (+51-56 и +60-66)  
 F (+45-48)  
 E (+35-37)  
 D (+26-27)  
 C (+20-23)  
 B (+11-15)  
 A (+1)

ДНК Нуклеосома  
 M - + - + PARP1



RFMEFI60414X0063