

В результате выполнения ПНИ были получены два варианта функциональной системы скрининга противоопухолевых препаратов на основе анализа белкового фактора PARP1.

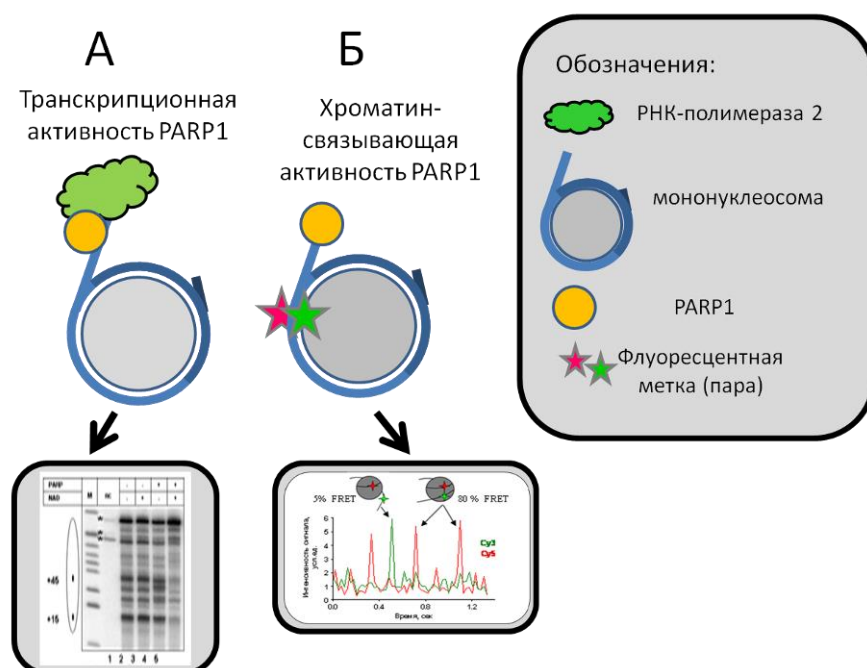


Рисунок 1.1- Схематичное изображение двух систем поиска ингибиторов PARP1, полученных в проекте. Система А основана оценке способности тестируемых соединений ингибировать транскрипционную активность PARP1 посредством проведения транскрипции в минимальной бесклеточной системе транскрипции на мононуклеосоме *in vitro* с последующим электрофоретическим анализом полученных транскриптов. Система Б – основана оценке разобщающего действия ингибиторов на хроматин-связывающую активность PARP1 посредством проведения FRET анализа.

В рамках выполнения работ по 5 этапу были получены экспериментальные образцы, в которых сымитированы более сложные уровни организации хроматина по сравнению с мононуклеосомными системами, которые были использованы в качестве прототипов для создания тест-системы скрининга ингибиторов PARP1 (раздел 1, отчет №5). Сделаны две системы: одна на базе мононуклеосомной матрицы, но с двухлинкерными участками, в которые размещены флуорофорные метки. Линкерные области ДНК, свободные от нуклеосом являются важнейшими регуляторными элементами хроматина. Такая система позволяет отслеживать пространственные изменения во взаиморасположении двух внуклеосомных цепей ДНК, с которыми имеет тенденцию связываться регуляторные хроматин-организующие белки, типа H1, PARP1 и пр. Вторая система – динуклеосомная, собрана из двух рядом расположенных нуклеосом и позволяет оценивать влияние

нескольких нуклеосом в системе. Проведены предварительные испытания ингибиторов PARP1 (олапариаб и госсипола) в двух системах (раздел 1, отчет №5). Было показано, что экспериментальная система с динуклеосомами хорошо детектирует связывание PARP1, но менее эффективно детектирует ферментативную активацию PARP1 в присутствии PARP1. Ингибирование ферментативной активности PARP1 в присутствии олапариба и госсипола лучше детектируется в экспериментальных системах, основанных на моонуклеосомах (раздел №2, отчет№5). Таким образом, тестовые испытания продемонстрировали, что данные системы нуждаются в дальнейшей доработке для доведения до стадии макета. На пятом этапе также были проведены дополнительные работы по компьютерному моделированию взаимодействия PARP1 с ингибиторами (раздел №3, отчет№5).. Было проведено технико-экономическое обоснование (ТЭО) разработки с учетом технологических возможностей индустриального партнера (раздел №4, отчет№5). Разработаны рекомендации и предложения по использованию результатов поисковой ПНИ в реальном секторе экономики, а также в дальнейших исследованиях и разработках (раздел №5, отчет№5). Разработан проект ТЗ на ОКР по теме: «Широкомасштабный скрининг в функциональной PARP1- системе с целью обнаружения перспективных противоопухолевых соединений» (раздел №6 отчет№5). Проведено обобщение результатов исследований (раздел №7, отчет№5). Осуществлено материально-техническое обеспечение экспериментальных работ этапа 5 в необходимом объеме; обеспечено участие в мероприятиях, направленных на освещение и популяризацию результатов проекта (международные и отечественные научно-практические конференции, биотехнологические и биомедицинские выставки семинары, симпозиумы, и т.п.). Результаты проведенной работы были представлены как индустриальным партнером, так и получателем Субсидии в виде постеров и устных докладах на мероприятиях по демонстрации и популяризации результатов и достижений науки (отчет о мероприятиях представлен отдельным документом). В экспериментальных работах используется оборудование ЦКП МГУ имени М.В. Ломоносова "Технологии получения новых наноструктурированных материалов и их комплексное исследование», ЦКП ИБГ «Биология живой клетки и биомедицинские нанотранспортеры лекарств», а также установки зарубежной

инфраструктуры и уникальные установки. Показатели "Доля исследователей в возрасте до 39 лет в общей численности исследователей-участников проекта" и "Средний возраст исследователей – участников проекта", «Объем привлеченных внебюджетных средств» превышают запланированные. С использованием результатов, полученных при выполнении Соглашения о предоставлении субсидии была защищена диссертация на соискание степени кандидата биологических наук по теме «Исследование взаимодействий ДНК с лигандами методами компьютерного моделирования и электронной микроскопии» Волох Олеся Игоревна.

Таким образом, все задачи в п.п. ПГ №5.1-5.7, а также пп. ТЗ 2.8, 2.9., 2.10, 2.11., 2.12., 3.20, 3.21, 3.24-3.28, , 6.4-6.6. выполнены.