

**Сведения о ходе выполнения проекта  
по Соглашению о предоставлении субсидии  
№ 14.616.21.0050 от «05» ноября 2015 г.**

**Этап 1 (итоговый)**

**(Руководитель проекта – доктор физико-математических наук  
Новикова Наталья Николаевна)**

В ходе выполнения проекта ««Развитие структурно-чувствительных и рентгено-спектральных методов для нанодиагностики биоорганических систем в условиях, приближенных к физиологическим» по Соглашению о предоставлении субсидии №14.616.21.0050 от 05 ноября 2015 года (уникальный идентификатор прикладных научных исследований RFMEFI61615X0050) с Министерством образования и науки России в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы» на этапе № 1 в период с 05 ноября по 31 декабря 2015 года выполнялись следующие работы:

На первом этапе выполнения Соглашения проведен выбор направления исследований, разработаны методы пробоподготовки выбранных объектов, а также проведены экспериментальные исследования.

Разработана методика получения водных зольей диоксида церия, стабилизированных цитрат-анионом, характеризующихся высокой агрегативной устойчивостью. Разработана методика получения высококонцентрированных (не менее 10 г/л) водных зольей диоксида церия, характеризующихся высокой агрегативной устойчивостью, не содержащих органических стабилизаторов и пригодных для химической модификации биосовместимыми лигандами.

Проведен поиск оптимальных условий синтеза наночастиц магнетита среднего диаметра 4 нм с гидрофобной оболочкой из олеиновой кислоты и олеиламина, а также магнитных частиц, стабилизированных цитрат-ионами, со средним размером 60 нм.

Проведен поиск оптимальных условий получения препаратов рекомбинантного белка паркин, включая: отбор клонов клеток, содержащих требуемый фрагмент ДНК последовательности паркина в правильной ориентации; выбор клеточной экспрессионной системы, обеспечивающей максимальный уровень как экспрессии рекомбинантного белка, так и его растворимой формы; подбор условий разрушения культуры клеток и очистки рекомбинантного белка.

Разработан теоретический формализм для количественного описания экспериментальных кривых рентгеновской дифракции в условиях полного внешнего отражения от мономолекулярных липидных слоев, сформированных на поверхности жидкости, в рамках приближения искаженной волны. Предложенный подход самосогласованно описывает особенности нетривиальной формы брэгговских пиков на количественном уровне, что позволяет надежно определять из анализа экспериментальных данных значения структурных параметров исследуемых слоев.

Метод стоячих рентгеновских волн был применен для изучения молекулярной организации белковых пленок на основе паркина, сформированных на жидкой субфазе. Показано, что белок обладает поверхностной активностью и образует стабильный монослой на поверхности жидкости. Впервые была выявлена

важная закономерность: количество ионов цинка в монослое паркина уменьшается с течением времени, одновременно с этим возрастает количество атомов железа, которые на начальном этапе присутствовали в монослое белка в следовых количествах.

Создан научно-методический задел для экспериментальной реализации на станции «Ленгмюр» Курчатовского источника синхротронного излучения метода рентгеновской спектроскопии поглощения XAFS в геометрии полного внешнего отражения. Это позволило существенно расширить возможности проводимых в РФ биофизических исследований, посвященных изучению биоорганических систем в условиях, приближенных к естественным условиям их функционирования.

С помощью рентгеновской спектроскопии поглощения XAFS в геометрии полного внешнего отражения впервые проведены экспериментальные исследования белковых пленок на основе белка паркин, сформированных на поверхности жидкой субфазы. Измерения были выполнены на станции «Ленгмюр» Курчатовского источника синхротронного излучения и станции ID10 Европейского центра синхротронного излучения. Получена информация об изменении локального окружения цинк содержащих кластеров белка паркин при деградации в результате окислительных процессов. Эти результаты позволяют сделать важное заключение о молекулярных механизмах возникновения нейродегенеративных изменений при различных формах болезни Паркинсона: нарушения лигазной активности белка паркин могут быть связаны не только с наследственными генными мутациями, но и с окислительно-восстановительными процессами в нейронах.

Иностраным партнером на станции ID10 Европейского центра синхротронного излучения проведены исследования поведения арахидоновой кислоты на водном золе наночастиц диоксида церия. Полученные данные указывают на то, что при взаимодействии наночастиц диоксида церия с молекулами арахидоновой кислоты происходит заметное изменение молекулярной упаковки монослоя. Представленные результаты наглядно демонстрируют возможности современных рентгеновских методов для детального изучения структурной реорганизации моделей клеточных мембран под действием наночастиц.

Для анализа олигомерного состояния препаратов рекомбинантных форм паркина была выполнена серия измерений с помощью метода малоуглового рассеяния на станции BM29 ESRF. Было показано, что препараты паркина проявляют монодисперсность только при концентрациях существенно меньше 1 мг/мл, а при ее увеличении склоны к образованию растворимых агрегатов.

На данном этапе выполнения Соглашения были проведены патентные исследования в соответствии ГОСТ Р 15.011-96. При выполнении прикладного научного исследования и экспериментальной разработки результаты интеллектуальной деятельности (РИД) отсутствовали.

Работы по Соглашению выполнены полностью в соответствии с требованиями к выполняемым работам. Проект завершен.