

«УТВЕРЖДАЮ»

Главный научный сотрудник
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института молекулярной биологии
им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук


член-корреспондент РАН Д.В.Купраш
« 08 » ноября 2019 г.

«СОГЛАСОВАНО»

Директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук


академик РАН А.А.Макаров
« 08 » ноября 2019 г.

«СОГЛАСОВАНО»

Директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии гена Российской академии наук


академик РАН П.Г.Георгиев
« 08 » ноября 2019 г.

«СОГЛАСОВАНО»

Ректор Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации


академик РАН С.А.Лукьянов
« 08 » ноября 2019 г.

«СОГЛАСОВАНО»

Генеральный директор Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства»


академик РАН В.М.Говорун
« 08 » ноября 2019 г.

Программа создания и развития

«Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины»

на 2019-2027 годы

Москва, 2019 г.

ПАСПОРТ
Программы создания и развития центра

	<p>Наименование организации, на базе которой создается ЦГИМУ</p>	<p>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН);</p> <p>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук (ИБГ РАН);</p> <p>Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России);</p> <p>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России)</p>
<p>1</p>	<p>Цели Программы создания и развития ЦГИМУ</p>	<p>Создание и развитие Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины как структуры, способной отвечать на возникающие вызовы и эффективно осуществлять исследования и разработки мирового уровня, создавать и развивать научную инфраструктуру, содействовать становлению и привлечению ведущих ученых для решения новых комплексных научных задач, осуществлять подготовку кадров высшей квалификации в области генетики, создавать и выводить на рынок наукоемкую продукцию, обеспечивающую повышение качества жизни человека и эффективное снижение потерь от заболеваний.</p> <p>Проведение исследований и разработок осуществляется в рамках направления <u>«Генетические технологии для медицины»</u> Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы</p>
<p>2</p>	<p>Задачи Программы создания и развития ЦГИМУ</p>	<p>1. Получение фундаментальных научных результатов мирового уровня в области генетики:</p> <p>1.1. Молекулярно-генетические основы иммунитета и иммунотерапии, в том числе:</p> <ul style="list-style-type: none"> - создание животных моделей на основе генетически модифицированных и гуманизированных мышей для изучения механизмов патологического воспаления; - установление вклада механизмов противовирусной защиты клеток и рецепторов иммунных контрольных точек в эффективность вирусного онколиза; - систематизация знаний о Т-клеточных рецепторах с определенной антиген-специфичностью, а также ассоциированных с определенным состоянием организма. <p>1.2. Регуляция экспрессии генетической информации, в том числе:</p> <ul style="list-style-type: none"> - исследование механизма транс-сплайсинга и неканонической

	<p>терминации транскрипции у высших эукариот;</p> <ul style="list-style-type: none"> - изучение механизмов сборки регуляторных белковых комплексов на хроматине и нарушений 3D генома в развитии генетических заболеваний с применением CRISPR/Cas-системы; - исследование генетических основ заболеваний человека при помощи высокоточного геномного редактирования короткоживущих рыб. <p>2. Разработка генетических технологий и получение результатов по направлениям реализации Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019 - 2027 годы:</p> <p>2.1. Генетические технологии для создания доклинических моделей заболеваний человека, в том числе:</p> <ul style="list-style-type: none"> - создание предклинических моделей и установление активности прототипов новых лекарств в генетически модифицированных и гуманизированных мышах; - генетическая модификация и гуманизация мышей для создания моделей развития атеросклероза; - установление потенциала гуманизации мышей и кроликов по белкам крови и создание гуманизированных кроликов-продуцентов биологически активных антитромбина и С1-ингибитора человека в молоке; - термогенетические технологии управления активностью клеток мозга для стимуляции нейрогенеза. <p>2.2. Препараты нового поколения и биомедицинские клеточные продукты, в том числе:</p> <ul style="list-style-type: none"> - создание модифицированных генетических систем на основе онколитических вирусов и иммунных клеток для повышения селективности и эффективности иммунотерапии глиобластомы; - создание платформы для идентификации мотивов последовательностей Т-клеточных рецепторов с известной специфичностью, а также ассоциированных с определенными заболеваниями; - разработка технологии секвенирования и редактирования генома для персонализированной диагностики и соматической коррекции патогенных генетических вариантов, связанных с наследственными заболеваниями у детей; - разработка изогенных клеточных систем для скрининга новых терапевтических молекул против нейродегенеративных полиглутаминовых заболеваний; - разработка клеточной модели невосприимчивости к инфекции ВИЧ-1 на основе генетически-кодируемых пептидных ингибиторов; - разработка технологии репрограммирования аутологичных фибробластов кожи для лечения диабета 1-го типа; - создание геномных и постгеномных технологий для преодоления проблем устойчивости злокачественных опухолей к лекарственной терапии; - разработка синтетических штаммов-пробиотиков с направленными
--	---

изменениями генома для терапии возрастных заболеваний.

2.3. Высокоточные геномные редакторы и системы доставки, в том числе:

- разработка новых инструментов геномного редактирования в клетках эукариот;
- усовершенствование подходов генного редактирования и доставки в модельных системах *in vivo*;
- создание новых подходов к подавлению негомологичной рекомбинации для встраивания в геномы протяженных фрагментов ДНК;
- разработка системы редактирования генома CRISPR-Cas9 с повышенной эффективностью гомологичной рекомбинации.

2.4. Создание принципиально новых средств борьбы с лекарственной устойчивостью патогенов, в том числе:

- создание CRISPR-биосенсоров для многопараметрического анализа молекулярных маркеров социально значимых заболеваний;
- разработка программного комплекса интерпретируемой оценки целевой и нецелевой активности эффекторного комплекса CRISPR-Cas при помощи глубоких нейронных сетей;
- разработка технологии восстановления CRISPR кассет у эпидемиологически значимых микроорганизмов;
- создание набора реагентов для полноэкзомного обогащения библиотеки фрагментов ДНК перед высокопроизводительным секвенированием.

В рамках направления работы Центра поставлены следующие инфраструктурные, кадровые и организационные задачи:

3. Развитие исследовательской инфраструктуры, включая приборную базу центра, центры коллективного пользования, уникальные научные установки и биоресурсные коллекции в области геномных исследований и генетических технологий, включая технологии геномного редактирования, в том числе:

3.1 Развитие инфраструктуры для проведения исследований на животных моделях заболеваний человека

- создание новых *in vivo* моделей для молекулярно-генетических исследований;
- развитие инфраструктуры для проведения предклинических исследований на модельных мышах и рыбах.

3.2 Развитие центров компетенций

- центр компетенций по трансгенезу и геномному редактированию;
- центр компетенций по полногеномному анализу;
- центр компетенций по микроскопии высокого разрешения и цифровой обработке изображений;
- центр компетенций по клеточным технологиям;

- центр компетенций по анализу индивидуальных клеток;
- центр компетенций по получению и анализу комплексных omics данных.

4. Развитие кадрового потенциала и популяризация науки, включая подготовку кадров, стажировку сотрудников, привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов, в том числе:

- создание новых и совершенствование существующих образовательных программ по генетическим технологиям в целях повышения качества подготовки молодых исследователей и обучающихся в области геномных исследований и генетических технологий студентов и аспирантов;
- проведение мероприятий по популяризации науки среди школьников, в том числе работа с одаренными и талантливыми детьми, проведение экскурсий для школьников, проектная деятельность;
- стажировки сотрудников в целях повышения квалификации в области генетических технологий и геномных исследований и приобретения ими опыта работы в ведущих мировых научных центрах;
- привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов.

5. Развитие научно-технического сотрудничества, в том числе:

- расширение научного сотрудничества с российскими и зарубежными научно-исследовательскими и медицинскими центрами;
- взаимодействие с индустриальными партнерами по доведению до производственного уровня, государственной регистрации и выводу на рынок разработанных в Центре генетических технологий, препаратов нового поколения и биомедицинских клеточных продуктов.

6. Совершенствование структуры организации, в том числе:

- создание новых научных подразделений Центра под руководством ведущих и молодых ученых.

3.	Общий объем финансирования Программы развития, в том числе по годам реализации	<p>Объем финансирования Центра за счёт средств гранта в размере 5025640000 (пять миллиардов двадцать пять миллионов шестьсот сорок тысяч) рублей, в том числе:</p> <ul style="list-style-type: none"> - в 2019 году в размере 432430000 (четыреста тридцать два миллиона четыреста тридцать тысяч рублей) рублей; - в 2020 году в размере 1566200000 (один миллиард пятьсот шестьдесят шесть миллионов двести тысяч) рублей; - в 2021 году в размере 432430000 (четыреста тридцать два миллиона четыреста тридцать тысяч рублей) рублей; - в 2022 году в размере 432430000 (четыреста тридцать два миллиона четыреста тридцать тысяч рублей) рублей; - в 2023 году в размере 432430000 (четыреста тридцать два миллиона четыреста тридцать тысяч рублей) рублей; - в 2024 году в размере 432430000 (четыреста тридцать два миллиона четыреста тридцать тысяч рублей) рублей; - в 2025 году в размере 432430000 (четыреста тридцать два миллиона четыреста тридцать тысяч рублей) рублей; - в 2026 году в размере 432430000 (четыреста тридцать два миллиона четыреста тридцать тысяч рублей) рублей; - в 2027 году в размере 432430000 (четыреста тридцать два миллиона четыреста тридцать тысяч рублей) рублей.
4.	Планируемые результаты реализации Программы создания и развития ЦГИМУ	<p>1. Будут получены фундаментальные научные результаты мирового уровня в области генетики, в том числе:</p> <p>В рамках задачи "1.1. Молекулярно-генетические основы иммунитета и иммунотерапии"</p> <ul style="list-style-type: none"> - разработаны новые линии мышей с гуманизацией генов цитокинов и компонентов иммунологических контрольных точек для оценки эффективности терапевтических подходов; - созданы новые экспериментальные модели аутоиммунных, нейродегенеративных, воспалительных заболеваний и рака; - экспериментально установлены модификации генома, обеспечивающие устойчивость к сепсису, а также предложены терапевтические подходы к селективной модуляции микробиоты иммуноглобулинами; - разработаны методы редактирования генов иммунных клеток для создания иммунотерапевтических клеточных препаратов с усиленной противоопухолевой активностью; - созданы терапевтические системы на основе модифицированных иммунных клеток, способных размножать онколитические вирусы и осуществлять их доставку в диссеминированные опухолевые очаги; - созданы с применением технологии CRISPR-Cas9 модифицированные поксвирусы и герпесвирусы в качестве онколитических средств; - разработана платформа для идентификации мотивов последовательностей Т-клеточных рецепторов с известной специфичностью, а также ассоциированных с определенными заболеваниями, в качестве диагностических и терапевтических мишеней. <p>В рамках задачи "1.2. Регуляция экспрессии генетической</p>

информации"

- раскрыты механизмы транс-сплайсинга и неканонической терминации транскрипции, определены белковые комплексы, участвующие в изучаемых процессах;
- разработана стратегия модуляции трехмерной организации генома для подавления активации онкогенов контролирующими их суперэнхансерами и коррекции ряда генетических патологий;
- проведена оценка перспективности CRISPR-Cas9-опосредованной активации гомологов генов человека, ассоциированных с устойчивостью к стрессу, для предотвращения онкологических и хронических заболеваний.

2. Будут разработаны генетические технологии и получены результаты мирового уровня по направлениям реализации Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019 - 2027 годы:

В рамках задачи "2.1. Генетические технологии для создания доклинических моделей заболеваний человека"

Будет разработана технологическая платформа «гуманизации» мышей для доклинической оценки блокаторов цитокинов и блокаторов иммунологических контрольных точек («чекпойнтов») для терапии аутоиммунных заболеваний и иммунотерапии рака.

Будут изучены на гуманизированных мышах первые в классе гуманизированные биспецифические мини-антитела для лечения таких аутоиммунных заболеваний, как ревматоидный артрит, болезнь Бехтерева, болезнь Крона, с пониженными побочными эффектами.

Будет разработан метод диагностики и отбора эффективных трансплантатов кишечной микрофлоры с использованием глубокого секвенирования и антител класса IgA, специфичных к различным бактериям, в предклинических моделях кишечного воспаления с дальнейшей стандартизацией под требования *in vitro* диагностики.

Будут усовершенствованы технологии внесения комплексных изменений в геном мышей с использованием CRISPR/Cas9-системы.

Будут созданы четыре новые мышинные модели атеросклероза, которые позволят осуществить прорыв в исследованиях механизмов его возникновения, развития, и лечения.

Будут получены гуманизированные кролики-продуценты белков антитромбина и С1-ингибитора для терапии орфанных заболеваний человека.

Будет исследована эффективность постинсультной реабилитации (коррекции поведенческого дефицита) животных в модели окклюзии средней мозговой артерии при стимуляции нейрогенеза.

В рамках задачи "2.2. Препараты нового поколения и биомедицинские клеточные продукты"

Будет разработано три штамма рекомбинантных онколитических энтеровирусов для лечения глиальных опухолей головного мозга.

Будет получена клеточная система на основе НК клеток, способная

	<p>поддерживать репликацию вирусов и служить в качестве вектора для направленной доставки онколитических вирусов в диссеминированные опухоли.</p> <p>Будет создана панель перевиваемых линий клеток на основе НК клеток с нокаутом генов контрольных иммунных точек (PD-1, TIM-3, TIGIT), предназначенных для адоптивной иммунотерапии.</p> <p>Будет разработан штамм ослабленного рекомбинантного вируса осповакцины, несущий в своем составе геном онколитического энтеровируса и способный осуществлять каскадный онколиз. Планируется представить на рынок панель из не менее пяти онколитических вирусов.</p> <p>Будут определены новые показания для применения секторальной супрессии Т-клеточного иммунитета (ССТИ) TRBV9 для лечения других аутоиммунных заболеваний в дополнение к болезни Бехтерева (увеиты, псориатический артрит и другие) и на основе анализа паттернов Т-клеточных рецепторов найдены новые мишени для создания терапевтических антител для направленной элиминации узких групп патологических Т-клеток.</p> <p>Будет разработана клеточная технология для лечения диабета 1-го типа на основе эпигеномного редактирования с последующей трансдифференцировкой аутологических клеток пациента.</p> <p>.</p> <p>Будут разработаны персонализированные клеточные и животные модели наследственных заболеваний обмена веществ, первичной легочной гипертензии, синдрома Ретта.</p> <p>Будут созданы изогенные клеточные модели полиглутаминовых заболеваний человека для скрининга лекарственных средств и изучения молекулярных механизмов патологии.</p> <p>Будут разработаны и апробированы на модельных системах кандидатные лекарственные препараты на основе антисмысловых олигонуклеотидов для терапии полиглутаминовых заболеваний человека.</p> <p>Будет разработана технологическая платформа на основе CRISPR/Cas и генетически-кодируемых пептидных ингибиторов для генерации Т-лимфоцитов человека, «вылеченных» от латентного ВИЧ-1 и одновременно устойчивых к последующему заражению вирусом.</p> <p>Будут разработаны и запатентованы неинвазивные диагностические панели для мониторинга эффективности лечения и детекции резистентных опухолевых клонов при карциномах яичника, молочной железы и прямой кишки.</p> <p>Будут предложены модификации существующих схем лечения рака яичника, молочной железы и прямой кишки на основании анализа "омиксных" данных парных опухолевых образцов.</p> <p>Будет впервые получен штамм-пробиотик, продуцирующий рапамицин.</p> <p>В рамках задачи "2.3. Высокоточные геномные редакторы и системы доставки"</p> <p>Будут найдены Cas-белки уменьшенного размера для использования в</p>
--	---

вирусных системах доставки, разработаны высокоточные редакторы для манипуляций с клетками эукариот.

Будет разработан геномный редактор нового поколения с повышенной эффективностью гомологичной рекомбинации.

Будет разработана новая технология увеличения эффективности редактирования геномов высших эукариот с использованием протяженной гомологичной матрицы.

Будет разработана технология адресной доставки компонентов CRISPR/Cas-системы в определенные ткани с помощью аденоассоциированных вирусов.

Будет собрана коллекция новых редакторов для анализа регуляции работы генов и структурно-функциональной организации белковых комплексов на геномных мишенях *in vivo*.

Будет разработан набор реагентов для редактирования генома CRISPR-Cas9 с высокой эффективностью встраивания в геном произвольных последовательностей.

В рамках задачи "2.4. Создание принципиально новых средств борьбы с лекарственной устойчивостью патогенов"

Будет разработана, запатентована и выведена на рынок диагностики *in vitro* новая универсальная платформа в виде CRISPR-биосенсора для многопараметрического анализа маркеров социально значимых заболеваний, включая лекарственно-устойчивых возбудителей инфекций.

Будет создан комплекс программ для планирования эксперимента по геномному редактированию, основанному на CRISPR-Cas, использующий для предсказания вероятностей целевого и нецелевого срабатывания эффекторного комплекса глубокие нейронные сети.

Будет создан макет набора реагентов для диагностики *in vitro* и автоматизированный биоинформатический пайплайн для восстановления состава CRISPR-кассет у патогенного микроорганизма – лекарственно-устойчивого возбудителя внутрибольничных инфекций *Clostridium difficile*, пригодные для использования в клинической практике для рационального применения фаготерапии в отношении данного патогена.

Впервые будет разработана отечественная технология полноэкзомного обогащения библиотеки фрагментов ДНК перед высокопроизводительным секвенированием, что обеспечит запуск производства отечественного набора реагентов для полноэкзомного обогащения под NGS на патентно-чистой основе.

В рамках направления работы Центра будут получены следующие инфраструктурные, кадровые и организационные результаты:

3. Развитие исследовательской инфраструктуры, включая приборную базу центра, центры коллективного пользования, уникальные научные установки и биоресурсные коллекции

В результате развития инфраструктуры Центра будет обеспечен научно-технической и приборной поддержкой цикл работ по разработке

технологий получения инновационных генотерапевтических препаратов, диагностических систем и связанных мероприятий, начиная с этапа проведения фундаментальных исследований. Кроме этого, развитая инфраструктура Центра позволит создавать и реализовывать комплекс образовательных программ в области генетических технологий и геномных исследований.

3.1. Развитие инфраструктуры для проведения исследований на животных моделях заболеваний человека

Будет реализован проект вивария для работы с трансгенными, нокаутными, нокинными, а также гуманизованными мышами, полученными в ходе реализации задач Центра с применением технологий геномного редактирования.

Для содержания, разведения и экспериментальной работы с короткоживущими рыбами рода *Nothobranchius*, нового модельного организма для изучения генетических механизмов заболеваний человека, будет реализован проект аквариальной.

Будут созданы новые *in vivo* модели для проведения молекулярно-генетических исследований мирового уровня.

3.2. Развитие центров компетенций

Для решения задач Центра и достижения результатов, заложенных в национальном проекте «Наука», будут сформированы центры компетенций мирового уровня для проведения исследований и разработок по направлениям: трансгенез и геномное редактирование, полногеномный анализ, микроскопия высокого разрешения и цифровая обработка изображений, клеточные технологии, анализ индивидуальных клеток, получение и анализ комплексных «омиксных» данных.

4. Развитие кадрового потенциала и популяризация науки, включая подготовку кадров, стажировку сотрудников, привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов

Будут созданы новые и усовершенствованы существующие образовательные курсы по генетическим технологиям с целью повышения качества подготовки молодых исследователей и обучающихся в области геномных исследований и генетических технологий студентов и аспирантов: к 2024 году – 19 образовательных курсов, к 2027 – 26 образовательных курсов.

Будут организованы мероприятия по популяризации науки среди школьников, в том числе по работе с одаренными и талантливыми детьми, экскурсии и проектная деятельность: к 2024 году – более 50 мероприятий (ориентировочно 3000 школьников), а к 2027 – более 100 мероприятий (ориентировочно 5000 школьников).

Будут организованы стажировки сотрудников в целях повышения квалификации в области генетических технологий и геномных исследований и приобретения ими опыта работы в ведущих мировых научных центрах: к 2024 году в стажировках в ведущих мировых центрах примут участие 255 человек, а к 2027 – 395 человек.

Будет проведен комплекс мероприятий по привлечению и закреплению

		<p>ведущих ученых и перспективных молодых специалистов, Ожидается, что число привлеченных к работе в Центре ведущих ученых и перспективных молодых специалистов составит: к 2024 году – 88 человек, а к 2027 – 126 человек.</p> <p>5. Развитие научно-технического сотрудничества</p> <p>Будет расширено научно-техническое сотрудничество с российскими и зарубежными научно-исследовательскими и медицинскими центрами, подтвержденное статьями в ведущих мировых научных журналах, индексируемых в первом квартале (Q1).</p> <p>Будут заключены лицензионные соглашения с промышленными партнерами (ЗАО «БИОКАД», ООО «БИОЧИП-ИМБ», ЗАО «Евроген», ООО «РУСХИМБИО»), проведены мероприятия по доведению до производственного уровня, государственной регистрации и выводу на рынок разработанных в Центре генетических технологий, препаратов нового поколения и биомедицинских клеточных продуктов.</p> <p>6. Совершенствование структуры организации</p> <p>Будут созданы новые научные лаборатории и группы Центра под руководством ведущих и молодых ученых для проведения фундаментальных и прикладных исследований и разработок мирового уровня в рамках задач Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы и национального проекта «Наука».</p>
5	Сроки реализации Программы создания и развития	С момента принятия положительного решения по результатам отбора и до 31 декабря 2027 года.

Руководитель центра

 / Купраш Д.В.

ОПИСАНИЕ ПЛАНИРУЕМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОГРАММЫ СОЗДАНИЯ И РАЗВИТИЯ ЦГИМУ

1. Программа научных исследований и научно-технологических работ

1.1. Актуальность и значимость планируемых научных исследований и разработок

Важнейшей задачей современных биомедицинских исследований является борьба с заболеваниями, существенно снижающими качество жизни и приводящими к преждевременной смерти. Современные методы редактирования геномов и другие генетические технологии значительно расширяют возможности в исследованиях механизмов возникновения заболеваний, идентификации мутаций, имеющих ключевую роль в этом процессе, воспроизведении заболеваний человека на животных моделях, разработки новых подходов к терапии и совершенствования существующих. Создание Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины внесет ключевой вклад в комплексное решение задачи ускоренного развития генетических технологий в России за счет существенного увеличения критической массы центров компетенций в области генетических технологий. Выполнение запланированных научно-технических и организационных мероприятий приведет к получению новых фундаментальных научных результатов мирового уровня по молекулярно-генетическим основам иммунитета и иммунотерапии и по регуляции экспрессии генетической информации, что в совокупности с подготовкой кадров мирового уровня резко увеличит проникновение генетических технологий в биомедицинские исследования в России. Будет решено множество задач по разработке препаратов нового поколения и биомедицинских клеточных продуктов, по разработке высокоточных геномных редакторов и систем доставки, по созданию доклинических моделей заболеваний человека и по созданию принципиально новых средств борьбы с лекарственной устойчивостью патогенов. Это приведет как к ускоренному росту доли российских биомедицинских проектов, конкурентоспособных на мировом уровне, так и к расширению спектра излечимых заболеваний - объектов высокотехнологической диагностики и терапии.

Модификации генома лабораторных животных, в первую очередь мышей, позволяют создавать модели патологий человека с акцентом на конкретные молекулярные и клеточные мишени лекарств, а также с персонифицированным аспектом – в случае «гуманизации». Кроме того, такие мыши позволяют оценивать активность лекарств на всех стадиях доклинических испытаний, так как большинство инновационных лекарств, основанных на терапевтических антителах, вирусных частицах или модифицированных иммунных клетках человека, нельзя исследовать в обычных мышах (*Мероприятие М1.1.1 Животные модели на основе генетически модифицированных и гуманизированных мышей для изучения механизмов патологического воспаления, здесь и далее по документу см. Приложение №5 к форме 4*). Запланированный спектр заболеваний включает несколько вариантов нейродегенеративных патологий, в том числе нейродегенерацию, вызванную белком Nef вируса иммунодефицита человека; несколько новых моделей атеросклероза, основанных на стрессе клеток сосудистого эндотелия, мышечные модели для иммунотерапии рака кожи и кишечника, модели аутоиммунного поражения суставов, мозга и кишечника. Мышечные и клеточные модели будут задействованы при разработке высокоэффективных и высокоспецифичных методов иммунотерапии злокачественных опухолей на основе онколитических вирусов и “перепрограммированных” иммунных клеток (*М1.1.2 Вклад механизмов противовирусной защиты клеток и рецепторов иммунных контрольных точек в эффективность вирусного онколиза*). Такой подход обладает более слабыми побочными эффектами по сравнению с традиционными методами терапии и его использование может существенно повысить продолжительность жизни пациентов с различными формами онкологических заболеваний. В частности, для разработки индивидуальных высокоспецифических методов иммунотерапии как онкологических, так и аутоиммунных заболеваний необходимо быстрое выявление клонов Т-клеток, специфичных к собственным опухолевым или нормальным

клеткам (*М1.1.3 Систематизация знаний о Т-клеточных рецепторах с определенной антиген-специфичностью, а также ассоциированных с определенным состоянием организма*). Важность задачи по систематизации и быстрой идентификации Т-клеточных рецепторов аутореактивных лимфоцитов была обозначена в 2019 году консорциумом компаний Adaptive Biotechnologies, Microsoft и Genentech.

Основными причинами образования онкоген-специфических аутоантигенов являются изменения экспрессии широкого спектра генов в опухолевых клетках, а также образование аномальных изоформ белков и формирование “химерных” белков в результате нарушений процессов сплайсинга и хромосомных перестроек. В рамках данного проекта планируется исследование механизмов формирования аномальных изоформ белка и появления химерных белков в результате транс-сплайсинга и неканонической терминации транскрипции (*М1.2.1 Исследование механизма транс-сплайсинга и неканонической терминации транскрипции у высших эукариот*). В последнее время появляется всё больше данных, указывающих на необходимость изучения регуляции экспрессии эукариот не на уровне отдельных генов или факторов, а на уровне трёхмерной организации больших хромосомных районов. Накапливается все больше экспериментальных данных о том, что нарушения в архитектуре хроматина могут стать индуктором активации онкогенов (*М1.2.2 Изучение механизмов сборки регуляторных белковых комплексов на хроматине и нарушений 3D генома в развитии генетических заболеваний с применением CRISPR/Cas-системы*). В рамках данного проекта планируется изучать ключевые механизмы формирования архитектуры хромосом (3D генома) и дистанционных взаимодействий между регуляторными элементами, что позволит в дальнейшем разработать подходы по целенаправленному изменению локальной структуры хроматина для восстановления правильной работы генов, белковые продукты которых являются ключевыми в регуляции экспрессии. Используя подходы редактирования 3D генома станет реальным создать новые методы для лечения ряда онкологических и наследственных заболеваний, которые целенаправленно корректируют нарушенную транскрипционную программу клетки. Для установления генетических детерминант ряда сердечно-сосудистых, онкологических и нейродегенеративных заболеваний планируется провести исследование функций ортологов генов человека, ассоциированных со стрессоустойчивостью, на короткоживущих рыбах. Эта новая модельная система позволит развернуть исследования по поиску способов коррекции генетических программ, способствующих развитию данных патологий (*М1.2.3 Исследование генетических основ заболеваний человека при помощи геномного редактирования короткоживущих рыб*).

Животные модели заболеваний человека необходимы для исследования широкого спектра инновационных лекарств, в том числе включающих видоспецифические антитела, пептиды и вирусные частицы. Для заболеваний, требующих тестирования препаратов, направленных на конкретные терапевтические мишени в клетках человека, будут созданы новые модели гуманизации животных, позволяющие детально следить за динамикой развития патологических процессов, лечения и возможных побочных эффектов (*М2.1.1 Предклинические модели и исследования активности прототипов новых лекарств в генетически модифицированных и гуманизированных мышах*). Для целенаправленного изучения процессов развития сердечно-сосудистых заболеваний, сопровождающихся атеросклеротическими патологиями сосудов, планируется создание мышинных моделей, позволяющих исследовать роль механизмов ответа на стресс клетками эндотелия в процессе формирования атеросклеротических бляшек. Для этого будут созданы тканеспецифичные нокауты по генам, кодирующим белки SAT-1, PON2, F1H-1, PND-2, вовлеченные в клеточный ответ на стресс и связанные с процессами метаболизма в эндотелии сосудов. Данные модели будут комбинироваться с существующими моделями по генам липидного обмена, что позволит более эффективно моделировать атерогенез и создавать новые подходы для профилактики и терапии заболеваний, сопровождающихся атеросклеротическими патологиями сосудов (*М2.1.2 Генетическая модификация и гуманизация мышей для создания моделей сердечно-сосудистых патологий человека*). Для исследования генетических заболеваний крови предполагается разработка гуманизированных моделей животных по белкам крови. В

первую очередь, планируется провести работы по гуманизации мышей и кроликов по генам антитромбина III и ингибитора С1-эстеразы, участвующих в системе свертывания крови. Помимо исследовательских целей, на основе гуманизированных кроликов будет разработана технология создания продуцентов для производства белков крови человека в молоке для терапии орфанных заболеваний, и такие первые продуценты будут получены для антитромбина и С1-ингибитора (*М2.1.3 Исследование потенциала гуманизации мышей и кроликов по белкам крови и создание гуманизированных кроликов-продуцентов биологически активных антитромбина и С1-ингибитора человека в молоке*). С ростом продолжительности жизни всё более остро встаёт вопрос о лечении и профилактике развития нейродегенеративных заболеваний. Для поиска методов лечения таких заболеваний предполагается создание модели для изучения триггерных механизмов нейрогенеза в гиппокампе и разработки способов регуляции данного процесса у взрослых организмов (*М2.1.4 Термогенетические технологии управления активностью клеток мозга для стимуляции нейрогенеза*). Получение моделей заболеваний человека с помощью генетических технологий полностью соответствует задаче ФНТП ГТ по переходу к персонализированной медицине за счет редактирования генетических вариантов и дефектов генома.

Для борьбы с онкологическими заболеваниями предполагается разработать способы стимуляции противоопухолевых механизмов как за счёт повышения иммуногенности опухоли с помощью онколитических вирусов, так и за счёт активации иммунных клеток пациента с помощью методов геномного редактирования. В результате выполнения проекта будут разработаны принципиально новые схемы терапии на основе панелей онколитических вирусов, с потенциалом достижения многолетних ремиссий у 30% больных глиобластомой (*М2.2.1 Создание модифицированных генетических систем на основе онколитических вирусов и иммунных клеток, для повышения селективности и эффективности иммунотерапии*). Для разработки высокоспецифических методов иммунотерапии и диагностики онкологических, аутоиммунных и инфекционных заболеваний с помощью постгеномных технологий планируется провести комплексный анализ Т-клеточных рецепторов, специфичных к опухолевым антигенам, собственным антигенам при аутоиммунитете и к антигенам инфекционных агентов. В данном направлении центральное место занимает прорывной, не имеющий мировых аналогов способ терапии аутоиммунных заболеваний - секторальная супрессия Т-клеточного иммунитета (ССТИ), основанный на прицельном уничтожении антителами патологических Т-лимфоцитов, атакующих здоровые клетки собственного организма (*М2.2.2 Платформа для идентификации мотивов последовательностей Т-клеточных рецепторов с известной специфичностью, а также ассоциированных с определенными заболеваниями*). С помощью постгеномных технологий планируется провести поиск генетических вариантов, связанных с развитием опасных наследственных заболеваний, приводящих к ранней гибели или инвалидизации детей. Полученные данные будут использованы для разработки безопасных методов коррекции мутаций в соматических клетках пациентов с помощью передовых мировых технологий геномного редактирования (*М2.2.3 Подходы к соматической коррекции патологических генетических вариантов, связанных с развитием наследственных заболеваний у детей*). Однако данный метод терапии трудно применим для наследственных нейродегенеративных заболеваний. Для разработки лечения таких заболеваний планируется создание изогенных клеточных моделей, позволяющих оценивать эффективность разрабатываемых препаратов. В качестве наиболее перспективных методов лечения нейродегенеративных полиглутаминовых заболеваний предполагается использовать антисмысловые олигонуклеотиды, избирательно блокирующие мутантные белки (*М2.2.4 Разработка изогенных клеточных систем для скрининга новых терапевтических молекул против нейродегенеративных полиглутаминовых заболеваний*).

Одной из важнейших проблем современного здравоохранения является распространение ВИЧ-инфекции, в особенности вызванной вирусом, устойчивым к антиретровирусной терапии. Современные методы генотерапии ВИЧ-инфекции остаются недостаточно эффективными. Так, нокаут гена CCR5 не защищает от CXCR4-тропного варианта ВИЧ, а инактивация провируса, основанная на NHEJ-мутагенезе, приводит к появлению резистентных к генотерапии мутантных

вариантов вируса. В рамках данного проекта планируется создание метода генетической модификации клеток пациента, что приводит к экспрессии пептидов, блокирующих проникновение вируса в лимфоциты (*M2.2.5 Разработка клеточной модели невосприимчивости к инфекции ВИЧ-1 на основе генетически-кодированных пептидных ингибиторов*). Другим широко распространённым хроническим заболеванием, связанным с необходимостью постоянного приёма лекарственных препаратов, является сахарный диабет 1 типа. В рамках данного проекта планируется создание иммобилизованных в гелевый имплант предшественников инсулин-продуцирующих клеток, полученных из фибробластов пациента с помощью метода генетического редактирования. Для защиты данных клеток от иммунной системы предполагается заключить их в полупроницаемую мембрану (*M2.2.6 Разработка технологии создания биомедицинского клеточного продукта для лечения диабета 1-го типа на основе репрограммированных аутологичных фибробластов кожи*). Ещё одной масштабной проблемой является формирование резистентности опухолей к терапии у многих пациентов. В рамках проекта (*M2.2.7 Геномные и постгеномные технологии для преодоления проблем устойчивости злокачественных опухолей к лекарственной терапии*) будет исследована уникальная коллекция парных опухолей, удалённых до и после проведения химиотерапии. В результате планируется обнаружение факторов, участвующих в развитии лекарственной устойчивости опухолей, что позволит создать подходы для подавления активности таких факторов. На данный момент участниками проекта показана важная роль присутствующих в экзосомах белков, регулирующих сплайсинг, в развитии лекарственной устойчивости опухолей, и будут разработаны подходы к блокировке данного механизма. В процессе разработки новых лекарственных препаратов зачастую встаёт вопрос об их ценовой доступности и возможности эффективного производства. Современные методы позволяют достаточно эффективно производить пептидные и белковые препараты, однако синтез сложных неполимерных соединений может быть затруднён. В рамках проекта (*M2.2.8 Разработка синтетических штаммов-пробиотиков с направленными изменениями генома для терапии возрастных заболеваний*) планируется с помощью методов геномного редактирования перенести в бактерию-продуцента гены белков синтеза сложного по строению макролида – рапамицина. Данный препарат будет эффективен в замедлении патологических процессов, ассоциированных с целым рядом аутоиммунных и онкологических заболеваний.

Как ожидается, уже в ближайшем будущем использование технологий геномного редактирования позволит разработать новые высокоэффективные подходы к лечению онкологических, нейродегенеративных, аутоиммунных и инфекционных и сердечно-сосудистых заболеваний. Однако пока эти методы имеют ряд ограничений, которые связаны с существующей вероятностью внесения нежелательных мутаций в случайные участки генома, что не позволяет использовать эту методику для редактирования генома человека. Второй нерешенной проблемой является преимущественная репарация разрывов по механизму лигирования негомологичных концов ДНК. Это значительно снижает эффективность получения сложных изменений в геноме, для внесения которых необходима гомологичная рекомбинация по внесённой в клетку ДНК-матрице. Поэтому важной частью проекта является работа по оптимизации методов геномного редактирования. Поиск новых Cas-белков может позволить снизить ограничения на подбор целевых последовательностей и выйти из-под действия ряда международных патентов (*M2.3.1 Разработка новых инструментов геномного редактирования в клетках эукариот*). В рамках данного проекта будет проведено систематическое сравнение эффективности и специфичности действия новых редакторов, идентифицированных в геномах бактерий, с использованием алгоритмов, разработанных участниками Центра. Также будет проведена модификация выбранных редакторов с целью повышения специфичности индукции разрывов в геноме (*M2.3.2 Усовершенствованные подходы геномного редактирования и доставки в модельных системах in vivo*). Параллельно будут разработаны подходы для эффективной сборки *in vitro* комплекса новых редакторов с гидовой РНК, что позволит увеличить эффективность точного редактирования генома млекопитающих.

Большое внимание будет уделено увеличению эффективности внесения заданных сложных изменений в геном с помощью гомологичной рекомбинации индуцируемых разрывов. С этой

целью планируется провести тестирование ряда инновационных разработок, усиливающих эффективность гомологичной рекомбинации (M2.3.3 *Разработка геномных редакторов нового поколения с повышенной вероятностью гомологичной рекомбинации для встраивания в геномы протяженных фрагментов ДНК*), снижающих эффективность репарации с помощью лигирования по негомологичным концам ДНК (M2.3.4 *Система редактирования генома CRISPR-Cas9 с повышенной эффективностью гомологичной рекомбинации*) и непосредственно соединяющих белок Cas с ДНК-матрицей (M2.3.2 *Усовершенствованные подходы генного редактирования и доставки в модельных системах in vivo*). Одновременно с увеличением эффективности гомологичной рекомбинации, ожидается, что предлагаемые подходы могут значительно снизить частоту нежелательных мутаций в других местах генома. В случае получения позитивных результатов, в отдельных разработках будет исследована возможность комбинирования двух или одновременно трех подходов, что вероятно позволит получить аддитивный эффект по увеличению точности и эффективности редактирования генома. К 2024 году планируется достичь технологического прорыва в области редактирования в плане эффективности и специфичности внесения сложных изменений в геномы. Аналогичная программа исследований инициирована Национальным Институтом Здоровья (США) (<https://commonfund.nih.gov/editing/fundedresearch>). Кроме создания высокоточных редакторов, важной проблемой для развития медицинских технологий является повышение эффективности доставки реагентов для редактирования генома в клетки и определенные ткани организма *in vivo*. Поэтому в Центре планируются исследования для развития новых подходов в системах доставки. С этой целью предполагается использовать ранее разработанные нанотраспортеры, которые будут модифицированы для доставки реагентов редактирования генома (M2.3.2 *Усовершенствованные подходы генного редактирования и доставки в модельных системах in vivo*). Также в этом проекте запланирована разработка технологий по использованию наиболее перспективного в настоящее время варианта доставки Cas-редакторов в определенные ткани организма с помощью аденоассоциированных вирусов. Наибольшей проблемой этого метода является маленький объем генетической информации, которую можно упаковать в капсулу аденоассоциированного вируса. В этом плане идентификация новых Cas-белков меньшего размера является оптимальным решением этой проблемы. Таким образом, в рамках проектов Центра будет осуществлен комплексный подход к решению основных проблем, которые сдерживают технологический прорыв в медицинских технологиях, связанный с появлением методов геномного редактирования.

Огромной проблемой во всем мире является рост лекарственной устойчивости возбудителей заболеваний, что вызывает значительные затруднения при выборе методов лечения пациентов. Ежегодно Всемирная организация здравоохранения выпускает глобальные отчеты и информационные бюллетени «Устойчивость к противомикробным препаратам», в которых отмечается опасность роста антибиотикорезистентности для целого ряда инфекций, включая туберкулез, ВИЧ, гонококк, возбудители внутрибольничных инфекций. Подчеркивается также, что без эффективных антибиотиков будет сложно обеспечить успешное проведение хирургических операций и химиотерапии при раке (WHO, 2018).

Важной задачей современной лабораторной диагностики является создание методов быстрой и эффективной идентификации лекарственно-устойчивых форм инфекционных агентов. В силу чрезвычайного разнообразия механизмов формирования резистентности к антимикробным препаратам разрабатываемые методики должны охватывать максимально возможный спектр молекулярных геномных мишеней, ассоциированных с лекарственной устойчивостью.

Целью исследований блока мероприятий «Создание принципиально новых средств борьбы с лекарственной устойчивостью патогенов» (M2.4.1 – 2.4.4) является разработка геномных редакторов, что позволит избирательно активировать, модифицировать или выключать гены-мишени, ассоциированные с патологическими процессами и генетическими заболеваниями, а также разработка и вывод на рынок технологий, обеспечивающих экспресс-диагностику и раннее выявление целевых генетических структур в спектре возбудителей актуальных социально значимых инфекций, в том числе создание отечественной компонентной базы для

высокопроизводительного секвенирования, как ключевого инструмента оценки эффективности разрабатываемых генетических технологий для биобезопасности, медицины, сельского хозяйства и биотехнологий.

1.2. Соответствие предложенной программы научных исследований трендам и уровню развития области геномных исследований и генетических технологий, включая технологии геномного редактирования, в мире

Предложенная программа научных исследований полностью соответствует трендам и уровню развития области геномных исследований и генетических технологий в мире. Это соответствие обеспечивается следующими обстоятельствами:

- каждый из коллективов Центра имеет в своем составе ведущих ученых, которые во многом определяют новые направления развития мировой биомедицины, геномных исследований и генетических технологий и публикуются в самых авторитетных журналах первого квартиля, таких как Cell, Nature, Science, Molecular Cell, Nucleic Acids Research, Nature Communications, PNAS, то есть центр мирового уровня будут создавать ученые мирового уровня и их команды.

- в научно-исследовательской работе представленных коллективов не только используются, но и создаются новые методы молекулярной биологии, генетики, клеточной биологии: полногеномные исследования на уровне сборки геномов, анализа транскриптомов, пространственной структуры генома, распределения хроматин-ассоциированных белков; обширная экспериментальная база по получению и направленной дифференцировке культур клеток; разработка и технологии применения различных биосенсоров и репортерных систем *in vivo*. Обширный опыт создания и анализа трансгенных животных, разработки моделей различных заболеваний человека и поиска генотерапевтических решений; разработка современных биоинформатических алгоритмов обработки больших массивов данных, использование методов машинного обучения.

- одним из серьезных недостатков российской науки по сравнению с наукой в Западной Европе и США – это отсутствие «критической массы» центров высокого уровня, малое число центров компетенций. В рамках создаваемого центра планируется целый ряд мероприятий, призванных восполнить этот пробел. Например, запланировано создание Центра компетенций по трансгенезу и геномному редактированию, центра компетенций по микроскопии высокого разрешения и цифровой обработке изображений, нескольких ЦКП, вивария в соответствии с мировыми стандартами. Запланировано создание новых и совершенствование существующих образовательных программ по генетическим технологиям, подготовка кадров, владеющих современными генетическими технологиями, участие в мероприятиях по популяризации науки, стажировка сотрудников, привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов. Для обеспечения преемственности и ликвидации последствий и/или профилактики массового отъезда молодых ученых на Запад планируется создание новых научных подразделений Центра под руководством ведущих молодых ученых и реструктуризация существующих лабораторий.

Все мероприятия Центра полностью соответствуют заявленным результатам ФНТП ГТ по направлению «Генетические технологии для медицины», обеспечат достижение показателей, заложенных в национальном проекте «Наука», и призваны обеспечить не только технологическую независимость РФ в данной области, но и осуществление исследований на самом высоком методическом уровне, с крайне высоким потенциалом для публикации в высокорейтинговых мировых научных журналах и создания востребованной продукции.

Проекты Центра призваны решать задачи мирового уровня в области развития генетических технологий, связанных с совершенствованием методов редактирования геномов, поиском и характеристикой новых редакторов, созданием клеточных и животных моделей различных заболеваний человека с целью изучения механизмов развития, поиском диагностических и терапевтических решений, тестированием новых лекарственных препаратов. Фундаментальные

исследования в рамках задач «Молекулярно-генетические основы иммунитета и иммунотерапии» и «Регуляция экспрессии генетической информации» связаны с применением новых возможностей, которые открывают методы редактирования геномов для исследования базовых принципов и механизмов иммунитета, старения, нейродегенерации, развития сердечно-сосудистых заболеваний, онкогенеза, регуляции экспрессии генетической информации. Полученные новые данные будут использованы для разработки новых стратегий лечения социально значимых патологий.

Технология редактирования геномов CRISPR/Cas9 позволила совершить качественный переход на новый уровень исследований в области функциональной геномики. Новые инструменты, в основу которых легло использование данной технологии, дали возможность проводить практически любые манипуляции с геномом [1-3]. Однако в настоящее время известно достаточно много ограничений, усложняющих использование CRISPR/Cas-системы. Основные проблемы связаны с возможностью внесения модификаций в нецелевые участки генома. При этом оказалось, что наиболее эффективные варианты Cas-белков обладают достаточно высоким потенциалом получения нежелательных модификаций [4]. Еще одна проблема связана со сложностями внесения безошибочных протяженных замен, основанных на замещении длинных гомологичных участков в геноме, так как существующие в клетке системы репарации препятствуют заменам из ДНК-матриц, вносимых исследователями в клетку параллельно с компонентами CRISPR/Cas-системы [5]. Дополнительное ограничение для использования данной системы редактирования на уровне организма связано с отсутствием специфичности по отношению к типу клетки-мишени, что, наряду с недостаточной эффективностью доставки, является одним из важнейших препятствий для ее применения на соматических клетках *in vivo* [6-9]. Поэтому важное место в деятельности Центра займут исследования, направленные на усовершенствование технологии редактирования геномов (задача «Разработка геномных редакторов и систем доставки»), что уже в ближайшей перспективе значительно расширит возможности эффективного и целенаправленного изменения генома животных и в будущем может привести к появлению принципиально новых подходов к лечению заболеваний человека. В процессе развития технологий редактирования геномов на настоящем этапе можно выделить две основные составляющие: повышение эффективности и точности редактирования генома и разработка эффективных методов доставки отдельных компонентов, используемых для редактирования, в клетки *in vitro* и непосредственно в определенный тип клеток *in vivo*. Именно в этих направлениях будут проводиться активные исследования, которые позволят выйти на передовой мировой уровень по новым прикладным и фундаментальным разработкам в области геномики.

Ранее коллектив заявителей разработал уникальные биоинформатические алгоритмы поиска новых CRISPR-Cas систем. В ходе выполнения работ по данному направлению будет продолжена систематическая работа по предсказанию принципиально новых CRISPR/Cas-систем и нетривиальных вариантов известных систем, проверке функциональности предсказанных систем в бактериальных и эукариотических клетках (*Мероприятие М2.3.1 Разработка новых инструментов геномного редактирования в клетках эукариот*). В результате будут выбраны оптимальные редакторы для решения различных задач: внесения мутаций в определенные геномные участки, посадки на определенные геномные мишени без дальнейшего внесения разрывов с целью характеристики изучаемых регуляторных элементов генома или направленного модулирования активности гена-мишени. Такие редакторы будут модифицированы путем объединения с различными модулями, обладающими следующими свойствами: быстрая деградация в клетках, блокирование репарации разрывов по негомологичным концам, увеличение эффективности гомологичной рекомбинации, возможности прижизненной детекции, высокой эффективности при очистке нативных белковых и ДНК-белковых комплексов (*Мероприятия М2.3.2 Усовершенствованные подходы генного редактирования и доставки в модельных системах in vivo, М2.3.3 Новые подходы к подавлению негомологичной рекомбинации для встраивания в геномы протяженных фрагментов ДНК, М2.3.4 Система редактирования генома*

CRISPR-Cas9 с повышенной эффективностью гомологичной рекомбинации). Параллельно будут разрабатываться подходы адресной доставки компонентов системы генного редактирования в клетки определенного типа на основе разработки системы распознавания рецепторов на поверхности клеток-мишеней при помощи лигандного модуля, соединенного с редактором, и на основе аденоассоциированных вирусов, используя которые можно обеспечить специфичность доставки в определенный тип клеток (*Мероприятие M2.3.2 Усовершенствованные подходы генного редактирования и доставки в модельных системах in vivo*).

Применение предлагаемого комплексного подхода позволит, с одной стороны, добиться высокой эффективности всех проводимых манипуляций на уровне внесения изменений в геном, а с другой стороны – значительно снизить нежелательные последствия неспецифических эффектов. В результате выполнения мероприятий в рамках задачи «Разработка геномных редакторов и систем доставки» будут не просто созданы релевантные модельные системы для изучения специфичности и эффективности функционирования новых редакторов, но и собрана коллекция новых редакторов, способных решать различные задачи в работах с организмами, связанные с внесением изменений в геном и тонкой регуляцией работы генов. Также будут разработаны методические подходы для повышения эффективности гомологичной рекомбинации при внесении сложных изменений в редактируемый геном.

Параллельно совершенствующиеся методы редактирования будут использованы при выполнении мероприятий задач «Молекулярно-генетические основы иммунитета и иммунотерапии», «Регуляция экспрессии генетической информации», «Генетические технологии для создания доклинических моделей заболеваний человека» и «Препараты нового поколения и биомедицинские клеточные продукты», в рамках которых будут использованы технологии генного редактирования с целью получения животных и клеточных моделей заболеваний человека и разработаны новые подходы к генной терапии в модельных системах.

В рамках работы Центра планируется создание животных и клеточных моделей для понимания механизмов действия отдельных ключевых генов человека и их роли в развитии заболеваний человека. Работы Центра будут сфокусированы на следующих социально значимых заболеваниях: аутоиммунных, нейродегенеративных, онкологических, сердечно-сосудистых, инфекционных патологиях, а также на нарушениях обмена веществ. Для данного круга заболеваний планируется создать ряд принципиально новых моделей гуманизированных животных, которые позволят детально исследовать механизмы заболеваний, следить за динамикой развития патологических процессов, тестировать различные терапевтические подходы, разрабатывать эффективные диагностические решения. Так, на модели короткоживущих животных предполагается исследование патологических процессов, приводящих к развитию возрастных заболеваний (*Мероприятие M1.2.3 Исследование генетических основ заболеваний человека при помощи геномного редактирования короткоживущих рыб*). В рамках данного проекта будут созданы модели для исследования заболеваний человека на основе редактирования генома рыб рода *Nothobranchius* с помощью технологии CRISPR/Cas. Также в работе планируется использовать модифицированную версию метода CRISPR/Cas – CRISPRa (CRISPR-Cas9-based gene activation) для активации недавно открытых «генов долголетия» FOXO3A и Klotho [10] в рыбах рода *Nothobranchius*. Метод CRISPRa появился относительно недавно [11], а его преимущество по сравнению с классическим CRISPR заключается в том, что CRISPRa повышает активность гена-мишени, при этом не меняя последовательность ДНК, что исключает риск неспецифического повреждения важных генов. Параллельно планируется провести разработку высокоэффективного штамма бактерий, продуцирующего рапамицин, один из наиболее эффективных на данный момент препаратов, замедляющих патологические процессы, связанные со старением [12-13] (*Мероприятие M2.2.8 Разработка синтетических штаммов-пробиотиков с направленными изменениями генома для терапии возрастных заболеваний*).

Ключевым участником большинства иммунных реакций являются различные типы Т-лимфоцитов, которые, однако, на данный момент редко используются в качестве мишеней для терапевтических воздействий. Бурно развивающимся направлением современной медицины

является разработка терапевтических подходов, связанных с прицельным использованием Т-лимфоцитов для борьбы с аутоиммунными заболеваниями, иммунотерапии рака, борьбы с ВИЧ-инфекцией и др. Сразу несколько связанных проектов Центра будут посвящены манипуляциям с Т-лимфоцитами.

Во-первых, в рамках задачи «Препараты нового поколения и биомедицинские клеточные продукты» будет разработана платформа для идентификации мотивов последовательностей Т-клеточных рецепторов с известной специфичностью, а также ассоциированных с определенными заболеваниями (*Мероприятия М1.1.3 Систематизация знаний о Т-клеточных рецепторах с определенной антиген-специфичностью, а также ассоциированных с определенным состоянием организма, М2.2.2 Платформа для идентификации мотивов последовательностей Т-клеточных рецепторов с известной специфичностью, а также ассоциированных с определенными заболеваниями*). Такая платформа позволит проводить диагностику целого ряда заболеваний и патологических состояний, станет возможным выявление вариантов Т-клеточных рецепторов, ответственных за возникновение и развитие аутоиммунных заболеваний, для их направленной элиминации. Накопление данных и развитие алгоритмов анализа репертуаров иммунных рецепторов, в том числе представленных в базе данных VDJdb [14], позволят вплотную приблизиться к практическому использованию этой информации. Выполняемый проект позволит развить новое поколение диагностических подходов на основе высокопроизводительного секвенирования индивидуальных репертуаров Т-клеточных рецепторов.

Во-вторых, будут инициированы работы по развитию технологии генного редактирования Т-лимфоцитов. На основе ранее разработанного заявителями метода SORTS (Surface Oligopeptide knock-in for Rapid Target Selection) [15] будут созданы конструкции для экспрессии коротких пептидных ингибиторов слияния ВИЧ-1, позволяющие с помощью CRISPR/Cas-системы генерировать Т-лимфоциты человека, одновременно «вылеченные» от латентного ВИЧ-1 и устойчивые к последующему заражению вирусом. Разработанная оригинальная технология SORTS позволит провести эрадикацию латентного ВИЧ и обеспечить устойчивость Т-лимфоцитов человека к широкому спектру изолятов ВИЧ-1. Планируется создание готового технологического продукта, который можно будет внедрять в клиническую практику в качестве генотерапевтического подхода лечения больных ВИЧ-инфекцией (*Мероприятие М2.2.5 Разработка клеточной модели невосприимчивости к инфекции ВИЧ-1 на основе генетически-кодированных пептидных ингибиторов*).

Параллельно будет разрабатываться технология редактирования генов иммунных клеток (NK-клеток, Т-лимфоцитов, дендритных клеток, моноцитов и макрофагов) для создания иммунотерапевтических клеточных препаратов с усиленной противоопухолевой активностью за счет устранения возможности их негативной регуляции со стороны опухолевого микроокружения (*Мероприятие М1.1.2 Вклад механизмов противовирусной защиты клеток и рецепторов иммунных контрольных точек в эффективность вирусного онколиза*). В последнее время активно разрабатываются подходы к терапии рака с помощью онколитических вирусов [16]. Их терапевтическое действие основано на повышенной восприимчивости клеток опухоли к вирусам за счет утраты внутриклеточной системы противовирусной защиты (интерфероновой системы) [17]. Размножаясь в клетках опухоли, вирусы вызывают их гибель. Кроме прямого цитолитического действия, вирусы способны существенно стимулировать системы противоопухолевого иммунитета, оказывая мощное иммунотерапевтическое действие и сдвигая баланс в сторону уничтожения опухолевых клеток [18]. Однако, системная доставка онколитических вирусов в места расположения опухолей и метастазов затрудняется крайне коротким периодом жизни вируса в кровотоке, за счет предсуществующих противовирусных антител, системы комплемента и адсорбции на клетки ретикулоэндотелиальной системы. В качестве усовершенствования данного подхода, с помощью технологии геномного редактирования на основе иммунных клеток планируется создание клеточных линий, способных доставлять в опухоли онколитические вирусы (*Мероприятия М1.1.2 Вклад механизмов противовирусной защиты клеток и рецепторов иммунных контрольных точек в эффективность вирусного*

онколиза, *M2.2.1 Создание модифицированных генетических систем на основе онколитических вирусов и иммунных клеток для повышения селективности и эффективности иммунотерапии*). Онколитические вирусы будут вводиться в такие клетки *in vitro*, после чего зараженные клетки могут вводиться пациентам внутривенно. Под действием градиента хемокинов, привлекающих иммунные клетки, вирус будет адресно доставлен в опухоль, реплицируясь внутри зараженной иммунной клетки. В таком состоянии вирус окажется защищенным от действия инактивирующих факторов, и его выход из погибающей иммунной клетки обеспечит эффективное заражение чувствительных к вирусу опухолевых клеток. Для создания модифицированных иммунных клеток с помощью геномного редактирования будет проводиться выключение генов для рецепторов иммунных контрольных точек, а также осуществляться иммортализация клеток путем введения векторных конструкций на основе покс- и герпесвируса, экспрессирующих гены *Tip*, *Str* и *orf73* [19] и гены рецепторов, обеспечивающих иммунное распознавание опухолевых клеток – химерные антигенные рецепторы, гены рецепторов хемокинов. В рамках данного проекта параллельно планируется проведение исследований малоизученного механизма образования опухолевых антигенов – транс-сплайсинга. Полученные данные позволят расширить репертуар мишеней для иммунотерапии и определить механизмы, регулирующие их образование (*Мероприятие M1.2.1 Исследование механизма транс-сплайсинга и неканонической терминации транскрипции у высших эукариот*).

Крупнейший в области молекулярной онкологии международный проект «The Cancer Genome Atlas» (TCGA) содержит «миксную» характеристику (геномы, транскриптомы, протеомы) более 11000 образцов первичных опухолевых и соответствующих им нормальных тканей и охватывает 33 вида рака [<https://www.cancer.gov/about-nci/organization/ccg/research/structural-genomics/tcga>]. Тем не менее, этот банк не содержит серийных образцов опухолей и, следовательно, не позволяет изучать механизмы адаптации злокачественных клеток к терапии. Работа, проводимая в рамках мероприятия *M2.2.7 (Геномные и постгеномные технологии для преодоления проблем устойчивости злокачественных опухолей к лекарственной терапии)* нацелена на создание уникальной коллекции парных образцов биологических жидкостей и операционного материала пациентов с аденокарциномой яичника, карциномой молочной железы и карциномой толстой кишки, полученных до и после предоперационной химиотерапии (ХТ), т.е. до и после возникновения резистентности. Использование геномных, транскриптомных, протеомных и биохимических исследований первичного и рецидивного материала позволит провести мониторинг реакции опухолевых клеток на ХТ, что даст перспективу для понимания эволюции опухоли после первичной терапии и позволит получить новые знания мирового уровня о формировании резистентности опухоли к химиотерапии.

Особое практическое значение в медицине приобрела направленная на подавление хронического воспаления анти-цитокиновая терапия аутоиммунных заболеваний с использованием терапевтических антител и других высокотехнологичных лекарств.

Несколько обстоятельств диктуют необходимость постоянной разработки не просто биосимиляров, а именно новых блокаторов цитокинов: (1) наличие значительной доли пациентов, устойчивых к терапии существующими лекарствами, (2) необходимость их пожизненного использования, что рано или поздно приводит к иммунному ответу на препарат; (3) появление новых показаний к применению [20]. Большинство препаратов создано на основе моноклональных антител, узнающих соответствующие белки человека, но не мыши, поэтому на обычных лабораторных мышах возможно только базовое исследование токсичности, не учитывающее ни физиологические последствия специфической блокировки мишени, ни особенности генетики человека [21]. Такое положение дел ограничивает возможности разработки новых типов блокаторов (например, биспецифических антител), поскольку при клинических испытаниях они должны конкурировать с существующими препаратами. В заявляемом исследовании, как пример персонифицированной доклинической модели, на основе ранее созданных мышей с гуманизацией гена TNF (фактора некроза опухоли) и его регуляторным последовательностям [22-24] будет получена новая конгенная линия, у которой в промоторную область гена TNF будет введена

однонуклеотидная замена (SNP), ассоциированная у людей с тяжелым течением ряда воспалительных патологий. Кроме того, в 3'-нетранслируемую область «гуманизованного» гена TNF будут интегрированы LoxP-сайты, позволяющие проводить с использованием Cre-рекомбиназы удаление AU-богатых последовательностей, отвечающих за нестабильность мРНК. Полученные линии мышей нового поколения будут использованы для моделирования заболеваний человека с повышенной продукцией TNF, таких как ревматоидный артрит, болезнь Бехтерева, псориаз и рассеянный склероз. Эта модель будет иметь ряд преимуществ перед широко используемым в мире «золотым стандартом» [25]. Гуманизация мышей и перевиваемых опухолевых линий по генам цитокинов и иммунологических контрольных точек («чекпойнтов») позволит проводить доклиническую оценку иммунотерапевтических препаратов. На гуманизованных мышцах будут изучены первые в классе гуманизованные биспецифические мини-антитела для лечения таких аутоиммунных заболеваний, как ревматоидный артрит, болезнь Бехтерева или болезнь Крона. Еще одна модель гуманизации – мыши с конститутивной и регулируемой экспрессией IL-6 человека миелоидными клетками. Такие мыши имеют целый ряд фенотипических проявлений, связанных с хроническим воспалением, однако для более тонкого изучения фенотипа необходимо выведение этих линий на чистую генетическую основу в SPF-статусе, что в дальнейшем позволит проводить сравнительную оценку эффективности анти-IL-6 препаратов, а также отработать технологию индуцируемой активации трансгена (или инактивации генов) в клетках микроглии как модель нейровоспаления и нейродегенерации и отслеживать изменение транскриптомных программ на уровне единичных клеток при нейтрализации медиаторов воспаления. Кроме того, впервые в мире будут получены уникальные Nef-трансгенные мыши с конститутивной и регулируемой активацией трансгена в клетках миелоидного ряда для моделирования атеросклеротических и нейродегенеративных осложнений у ВИЧ-инфицированных. Еще одна инновационная задача основана на модуляции микробиоты при воспалении ЖКТ антителами класса IgA. Так, будет разработан метод диагностики и отбора эффективных трансплантатов кишечной микрофлоры с использованием антител класса IgA, специфичных к различным бактериям, и глубокого секвенирования с оценкой в предклинических моделях кишечного воспаления с дальнейшей стандартизацией под требования ин витро диагностики, что позволит представить на рынок новую методику диагностики микрофлоры людей с различными патологиями ЖКТ. *(Мероприятия M1.1.1 Животные модели на основе генетически модифицированных и гуманизованных мышей для изучения механизмов патологического воспаления, M2.1.1 Предклинические модели и исследования активности прототипов новых лекарств в генетически модифицированных и гуманизованных мышцах).*

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) – одна из основных причин смертности во всем мире. При этом частым важным фактором развития патологий сердечно-сосудистой системы (в частности, ишемической болезни сердца) является атеросклероз сосудов. При моделировании ССЗ, сопровождаемых атерогенезом, в ранних работах большое внимание уделялось гомеостазу липопротеинов высокой и низкой плотности в крови. В частности, мыши, несущие мутации в генах *LDLR* и *ApoE*, до сих пор широко применяются в исследованиях ССЗ [26-29]. Недостатком этих моделей является то, что они характеризуются слишком медленными темпами атерогенеза, поэтому становится практически невозможным скрининг новых лекарственных средств и медицинских технологий [30]. При этом более сложные модели, основанные на моделировании других этапов атерогенеза [31], или нежизнеспособны, или детектируемые нарушения носят генерализованный характер [32], в результате чего мышьяная модель не соответствует течению заболевания человека. В соответствии с обозначенными проблемами в рамках настоящего проекта планируется провести работу по созданию новых мышьяных моделей атеросклероза, основанных на получении кондиционных нокаутов по генам *CAT-1*, *PON2*, *FIN-1*, *PHD-2*, кодирующим белки, принимающие участие в различных путях метаболизма в эндотелии сосудов, вовлеченные в клеточные реакции на стресс и ассоциированные с сердечно-сосудистыми заболеваниями у человека. Прямой целью проекта станет нокаут данных генов в эндотелиальных клетках сосудов, но ввиду универсальности предлагаемой стратегии, созданные модели также могут быть использованы для исследования роли антиоксидантных препаратов на фоне оксидативного стресса

избирательно в любых тканях (нервной, мышечной, в отдельных органах и системно). Таким образом, в результате будут отработаны технологии внесения комплексных изменений в геном мышей и созданы четыре новые модели для исследования механизмов развития атеросклероза и поисков путей его лечения. Созданные модельные линии мышей с возможностью тканеспецифичного нокаута по генам, вовлеченным в клеточные реакции на стресс и метаболические процессы, происходящие в эндотелии, позволит усовершенствовать подходы изучения заболеваний, сопровождающихся атерогенезом (например, ишемической болезни сердца). Наиболее перспективной областью применения полученных линий является их использование в качестве моделей для скрининга и оценки эффективности фармакологических агентов. Животные с генетической модификацией SLC7A1 и PON2 будут репрезентативной тест-системой для изучения атеропротективных средств с NO-эргической и антиоксидантной активностью. В то же время мыши с тканеспецифичным подавлением активности PHD2 и FIH1 будут демонстрировать усиление экспрессии HIF-1 в эндотелии, что позволит проводить исследования эндотелиопротективных, антиагрегатных, противовоспалительных, метаболитных и некоторых противоопухолевых препаратов (*Мероприятие M2.1.2 Генетическая модификация и гуманизация мышей для создания моделей сердечно-сосудистых патологий человека*).

В последнее время рядом лабораторий разрабатываются подходы к генной терапии наследственных заболеваний [33-36]. В рамках данного проекта планируется провести масштабный анализ геномов представителей не менее 1000 семей с наследственными инвалидизирующими заболеваниями и на клеточных и животных моделях верифицировать связь отдельных генных вариаций и исследуемых патологий. На основании полученных данных планируется провести разработку и апробацию клеточных технологий, основанных на редактировании генома аутологичных соматических клеток, для персонализированной терапии у больных с наследственными заболеваниями обмена веществ (мукополисахаридозами I и II типов, синдромом Леша-Найхана и лейкодистрофиями), первичной легочной гипертензией, синдромом Ретта (*Мероприятие M2.2.3 Подходы к соматической коррекции патологических генетических вариантов, связанных с развитием наследственных заболеваний у детей*). Для исследования патологических изменений в регуляции экспрессии генов будет использован современный структурный подход, основанный на изучении изменения транскрипционно активных трёхмерных регуляторных комплексов [37-38] (*Мероприятие M1.2.2 Изучение механизмов сборки регуляторных белковых комплексов на хроматине и нарушений 3D генома в развитии генетических заболеваний с применением CRISPR/Cas-системы*).

В рамках реализации Программы Центра будет проведено акцентированное изучение наследственных заболеваний крови. В настоящем проекте разрабатывается подход по получению гуманизированных мышей по генам, кодирующим белки антитромбин III и ингибитор С1-эстеразы, участвующие в системе свертывания крови. В случае получения позитивных результатов, аналогичные гуманизированные мыши могут быть созданы по другим генам. Помимо исследовательских целей, данные животные могут быть использованы для получения рекомбинантных терапевтических белков. Так, к настоящему моменту показана целесообразность медицинского применения белков антитромбина и С1-ингибитора человека, выделенных из молока трансгенных животных, для терапии наследственных нарушений свертываемости крови, связанных с дефицитом некоторых факторов свертывания. [39]. Однако, основными проблемами использования животных как продуцентов белков на протяжении предшествующих лет были случайная интеграция конструкции в геном животного и присутствие гена животного, кодирующего гомологичный белок, от которого трудно полностью отделить белок человека. Но новые разработки в области редактирования с использованием системы CRISPR/Cas позволяют полностью решить вышеописанные проблемы, в связи с чем значительно увеличивается привлекательность животных как продуцентов терапевтических белков человека [40-41]. В результате в Центре будут получены гуманизированные кролики-продуценты белков антитромбина и С1-ингибитора человека в молоке. (*Мероприятие M2.1.3 Исследование потенциала гуманизации мышей и кроликов по белкам крови и создание гуманизированных*

кроликов-продуцентов биологически активных антитромбина и С1-ингибитора человека в молоке).

Еще одним мероприятием Центра является разработка генотерапевтических подходов для лечения ряда хронических заболеваний. Так, в рамках мероприятия *M2.2.6 (Разработка технологии репрограммирования аутологичных фибробластов кожи для лечения диабета 1-го типа)* планируется создание метода получения инсулин-продуцирующих бета-клеток из фибробластов пациента. В настоящее время существует ряд научных работ по прямому репрограммированию клеток “близкого” энтодермального происхождения (гепатоциты, стволовые клетки кишечных крипт, альфа-клетки поджелудочной железы) в бета-клетки при помощи экзогенной экспрессии генов транскрипционных факторов PDX1, NGN3, MAFA в сочетании с комплексом индукторов и факторов роста [42-44]. Минусом этого подхода является то, что данные клетки не могут служить источником для репрограммирования, ввиду своей труднодоступности и сложностей культивирования. Другой подход с получением аутологичных бета-клеток из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) также трудно реализуем, поскольку ИПСК довольно плохо дифференцируются в условиях *in vitro* в любые клетки энтодермального происхождения, и особенно в инсулин-продуцирующие клетки [45]. Также остается проблема остаточных недифференцированных ИПСК в трансплантируемых клетках, которые могут дать начало злокачественным опухолям [46]. В данном проекте будет разработан комплекс технологий, который предварительно получил название «Инсулиновый дисплей». Планируется использовать систему редактирования эпигенома на основе эффекторного комплекса CRISPR/dCas9-SunTag-VP64 [47], которая позволяет мультиплексно управлять экспрессией большого числа транскрипционных факторов. Использование этой системы сделает возможным быструю и относительно дешевую проверку больших пулов транскрипционных факторов и их сигнальных путей. Также данная система уже показала свою работоспособность для нужд клеточного репрограммирования [48]. В сочетании с технологией транскриптомного анализа единичных клеток [49] эта технология позволит за короткий период времени найти необходимые комбинации для репрограммирования. Путем нескольких последовательных экспериментов будет подобран оптимальный набор репрограммирующих факторов и подтвержден в независимых экспериментах на первичных культурах клеток пациентов с диабетом 1-го типа. Также будет показана работоспособность полученных клеток в экспериментах на животных моделях диабета 1-го типа.

В рамках Программы Центра также будут разработаны генотерапевтические подходы для борьбы с нейродегенеративными заболеваниями и причинами их развития. Ряд нейродегенеративных заболеваний связан с образованием полиглутаминовых белков. В работах последних лет, посвященных данным заболеваниям, можно заметить общую тенденцию в разработке дизайна лекарств направленного действия, основанную на увеличении стабильности пространственно затрудненных структур и/или конкурентном связывании сайтов посадки регуляторных белков, например, с помощью антисмысловых олигомеров, способных гибридизоваться с одноцепочечными фрагментами РНК, кодирующими полиглутаминовые последовательности. На сегодняшний день рассматриваются две основные терапевтические стратегии в лечении подобных нейродегенеративных заболеваний – использование антисмысловых олигонуклеотидов (ASO) и лигандов, способных стабилизировать, например, C9orf72 G-квадруплексы [50-52]. Ionis Pharmaceuticals, лидер в области ASO терапии, представил в 2018 году данные исследования фазы 1/2 ASO IONIS-HTTRx (RG6042) у людей с болезнью Гентингтона на ранней стадии. Результаты анализа данных исследования продемонстрировали корреляцию между снижением содержания мутантного белка гентингтина (mHTT) и улучшением клинических показателей болезни Гентингтона. Стоит отметить, что этот ASO снижает и мутантный, и нормальный HTT (<http://www.ionispharma.com/>). Между тем дополнительной проблемой при разработке ASO и основным препятствием для их применения в клинике является необходимость или желательность обеспечения избирательности действия по отношению к патологическому аллелю. Одной из основных проблем для разработки таких препаратов является отсутствие адекватных модельных систем. В рамках мероприятия *M2.2.4 (Разработка изогенных*

клеточных систем для скрининга новых терапевтических молекул против нейродегенеративных полиглутаминовых заболеваний) будет создана изогенная клеточная система для разработки терапевтических молекул на основе коротких антисмысловых олигонуклеотидов. В дальнейшем, для валидации найденных эффективных молекул, в работе будут использованы мыши, трансгенные по мутантному аллелю гена НТТ человека (мышь YAC128).

Другой стратегией борьбы с нейродегенеративными заболеваниями является стимуляция процессов нейрогенеза. Точечное и управляемое вмешательство в физиологические процессы взрослого мозга требуют эффективной технологии доставки и управления терапевтическим агентом. В рамках мероприятия М2.1.4 (*Термогенетические технологии управления активностью клеток мозга для стимуляции нейрогенеза*) планируется разработка и адресная доставка в отдельные популяции клеток мозга новых генетических конструкций, кодирующих белок с управляемой активацией. Одним из многообещающих подходов такого типа до недавнего времени была оптогенетика (от англ. optics + genetics) [53]. Оптогенетика предполагает управление функцией нейронов с помощью генов, кодирующих опсины – светочувствительные ионные каналы или помпы из одноклеточных водорослей и других микроорганизмов, с последующим управлением активностью этих нейронов с помощью света. Оптогенетика привела к настоящей революции в нейробиологии, впервые позволив неинвазивно управлять активностью нейронов, выявлять функциональные когорты нейронов, управлять памятью и т.д. Однако, у оптогенетического подхода есть ряд существенных недостатков. Во-первых, родопсины из эволюционно далеких видов неизбежно вызывают иммунный ответ, направленный на клетки, экспрессирующие эти белки. Во-вторых, видимый свет, используемый в оптогенетике, плохо проникает вглубь ткани, что лишает возможности неинвазивного управления активностью глубоких отделов мозга. В-третьих, традиционные ионные каналы, применяемые в оптогенетике, имеют низкую проводимость, что обуславливает необходимость в сильной гиперэкспрессии каналов, использование больших интенсивностей света, что приводит к фототоксичности. Наконец, ионная селективность этих опсинов препятствует их использованию для активации неэлектровозбудимых клеток. Перспективной альтернативой оптогенетике является термогенетика – разработанный участниками Центра подход к управлению активностью нейронов с помощью термочувствительных ионных каналов семейства TRP [54]. Эти каналы имеют проводимость на три порядка превышающую таковую у стандартных инструментов оптогенетики, что позволяет легко достигать более стабильного ответа. Такие ионные каналы есть у всех видов животных, включая человека и близкородственные виды, что позволит избежать нежелательного иммунного ответа. Активация TRP-терморецепторов может быть осуществлена с помощью инфракрасного излучения, доставляемого ИК-лазером. Одним из важнейших преимуществ термогенетики является универсальность: TRP-каналы можно использовать как для эффективной деполяризации нейронов, так и для активации других клеток: основной катион, который проводят каналы TRP, кальций, является универсальным вторичным мессенджером в любых клетках. Таким образом, с помощью термогенетической активации можно активировать не только нейроны в различных отделах мозга, но и другие клетки, например, астроглию.

Предлагаемый к решению блок мероприятий «Создание принципиально новых средств борьбы с лекарственной устойчивостью патогенов» (М2.4.1 – 2.4.4) полностью соответствуют мировым тенденциям в части разработки геномных редакторов и создания принципиально новых средств борьбы с лекарственной устойчивостью патогенов. Принципиально новым подходом в диагностике стало применение геномных редакторов – Cas-нуклеаз для идентификации специфичных мишеней в геномах возбудителей, что обеспечивает чрезвычайно высокую чувствительность (анализ единичных копий нуклеиновых кислот) и простоту анализа (изотермичность) [55]. Созданные в США платформы [56, 57] олицетворяют сегодня молекулярную диагностику мирового уровня, демонстрируя быструю и эффективную детекцию различных вирусов (Денге, Зика, папилломавирусы), а также идентификацию как герминальных, так и соматических мутаций, в том числе и в «жидкой биопсии».

Оптимизация дизайна экспериментов по геномному редактированию является важным этапом

для успешного использования технологии геномного редактирования на основе CRISPR/Cas в медицине. Существующие в мире программные продукты, использующие алгоритмы машинного обучения, недостаточно эффективны для поиска в геноме оптимальных сайтов узнавания системой редактирования. В данном проекте планируется использовать новые подходы глубокого машинного обучения, которые позволят преодолеть существующие ограничения и получить инструмент высокоэффективного предсказания специфичности широкого круга CRISPR/Cas-редакторов.

Определение штаммов эпидемиологически значимых микроорганизмов имеет значение для характеристики их чувствительности к антибиотикам, токсинам, бактериофагам, что необходимо для выбора адекватной терапии. Существующие молекулярные технологии в России и за рубежом основаны на ПЦР-диагностике или полногеномном секвенировании, однако они обладают либо недостаточной чувствительностью, либо дорогостоящи и трудоемки. В настоящем проекте впервые в мире будет разработан метод типирования штаммов на основе разнообразия CRISPR-кассет, который будет обладать способностью различать даже близкие штаммы между собой и в то же время являться экономически обоснованным для широкого практического применения.

Настоящий проект направлен на сопряжение методики анализа нуклеиновых кислот посредством Cas-нуклеаз с оригинальной отечественной технологией гидрогелевых биочипов, успешно зарекомендовавшей себя в клинической лабораторной диагностике [58]. Гидрогелевые элементы биочипов станут платформой для совместной иммобилизации Cas-нуклеаз и направляющих и детектирующих молекул РНК/ДНК. «Программируемая» работа нуклеаз, дополненная изотермической амплификацией в едином реакционном объеме биочипа, позволит создать высокочувствительные CRISPR-биосенсоры, позволяющие одновременно анализировать сотни различных геномных мишеней, в том числе и в полевых условиях. Такой подход обеспечит высокую мультиплексность и чувствительность анализа, является патентоспособным в РФ и за рубежом, и позволит разработать, зарегистрировать и вывести на рынок принципиально новые диагностикумы для детекции лекарственно-устойчивых патогенных микроорганизмов, идентификации генетических маркеров лекарственной устойчивости и анализа мутаций в свободно циркулирующей опухолевой ДНК.

С целью разработки высокоэффективных и специфичных диагностикумов, основанных на применении Cas-нуклеаз, будет разработан, зарегистрирован как программное обеспечение и выведен на рынок комплекс программ для планирования эксперимента по геномному редактированию, основанному на CRISPR/Cas, использующий для предсказания вероятностей целевого и нецелевого срабатывания эффекторного комплекса глубокие нейронные сети, предоставляющие объяснение получаемым предсказаниям. Будут проведены опыты для получения данных по ряду используемых Cas-белков (включая модифицированные белки) и будут обучены доступные для применения предсказательные модели на основе этих данных, что позволит выбрать оптимальные ферменты Cas-нуклеазы для диагностикумов совместно с направляющими и детектирующими зондами.

Актуальной задачей в борьбе с лекарственно-устойчивыми патогенными микроорганизмами является оценка их чувствительности к бактериофагам. В рамках задачи будет создан метод быстрого и эффективного профилирования состава спейсеров CRISPR-кассет патогенных микроорганизмов для получения информации об их чувствительности к бактериофагам, что создаст условия для рационального использования фаготерапии и эпидемиологических исследований в отношении данного патогена.

В рамках Программы предлагается создание отечественных компонентов и реагентов для полноэкзомного секвенирования, как основной и недорогой альтернативы полногеномному секвенированию. На сегодня существует две лидирующих технологии полноэкзомного обогащения: ПЦР экзонов и гибридизация со специфичным олигонуклеотидом. Обе технологии принадлежат иностранным компаниям и не могут быть локализованы, в том числе по технологическим причинам (отсутствие отечественной технологии одновременного синтеза сотен

тысяч олигонуклеотидов).

Возможным решением, направленным на локализацию в России методики полноэкзомного обогащения, является нормировка представленности уникальных фрагментов генома с вычитанием транскриптома и получением реплики транскрибируемых участков генома. Таким образом, проект даёт возможность запуска производства отечественного набора реагентов для полноэкзомного обогащения под NGS на патентно-чистой основе.

Литература

1. Shmakov S, Abudayyeh OO, Makarova KS, Wolf YI, Gootenberg JS, Semenova E, Minakhin L, Joung J, Konermann S, Severinov K, Zhang F, Koonin EV. (2015) Discovery and Functional Characterization of Diverse Class 2 CRISPR-Cas Systems. *Mol Cell*, 60, 385-97.
2. Gootenberg JS, Abudayyeh OO, Kellner MJ, Joung J, Collins JJ, Zhang F. (2018) Multiplexed and portable nucleic acid detection platform with Cas13, Cas12a, and Csm6. *Science*, 360(6387), 439-444.
3. Myhrvold C, Freije CA, Gootenberg JS et al. (2018) Field-deployable viral diagnostics using CRISPR-Cas13. *Science*, 360(6387), 444-448.
4. Zhang XH, Tee LY, Wang XG, Huang QS, Yang SH. Off-target Effects in CRISPR/Cas9-mediated Genome Engineering. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2015 Nov17;4:e264
5. Sontheimer Erik J. BR. The Bacterial Origins of the CRISPR Genome-Editing Revolution. *Hum. Gene Ther*. 26: 413–424 (2015).
6. Glass, Z., Li, Y., Xu, Q. (2017). Nanoparticles for CRISPR–Cas9 delivery. *Nature biomedical engineering*, 1(11), 854
7. Lino, C. A., Harper, J. C., Carney, J. P., Timlin, J. A. (2018). Delivering CRISPR: a review of the challenges and approaches. *Drug delivery*, 25(1), 1234-1257.
8. Yin, H., Kauffman, K. J., Anderson, D. G. (2017). Delivery technologies for genome editing. *Nature reviews Drug discovery*, 16(6), 387.
9. Glass, Z., Lee, M., Li, Y., Xu, Q. (2018). Engineering the delivery system for CRISPR-based genome editing. *Trends Biotechnol*, 36(2), 173-185.
10. Revelas M, Thalamuthu A, Oldmeadow C, Evans TJ, Armstrong NJ, Kwok JB, Brodaty H, Schofield PR, Scott RJ, Sachdev PS, Attia JR, Mather KA. Review and meta-analysis of genetic polymorphisms associated with exceptional human longevity. *Mech Ageing Dev*. 2018, 175:24-34.
11. Perez-Pinera P, Kocak DD, Vockley CM, Adler AF, Kabadi AM, Polstein LR, Thakore PI, Glass KA, Ousterout DG, Leong KW, Guilak F, Crawford GE, Reddy TE, Gersbach CA. RNA-guided gene activation by CRISPR-Cas9-based transcription factors. *Nat Methods*. 2013, 10(10):973-6.
12. Gusarov I, Gautier L, Smolentseva O, Shamovsky I, Eremina S, Mironov A, Nudler E. Bacterial nitric oxide extends the lifespan of *C. elegans*. *Cell*. 2013. 152(4): 818-30.
13. David E. Harrison, Randy Strong, Zelton Dave Sharp, James F. Nelson, Clinton M. Astle. Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice *Nature*. — 2009-07-16. Vol. 460, iss. 7253. P. 392-95
14. Shugay M, Bagaev DV, Zvyagin IV, Vroomans RM, Crawford JC, Dolton G, Komech EA, Sycheva AL, Koneva AE, Egorov ES, Eliseev AV, Van Dyk E, Dash P, Attaf M, Rius C, Ladell K, McLaren JE, Matthews KK, Clemens EB, Douek DC, Luciani F, van Baarle D, Kedzierska K, Kesmir C, Thomas PG, Price DA, Sewell AK, Chudakov DM. VDJdb: a curated database of T-cell receptor sequences with known antigen specificity. *Nucleic Acids Res*. 2018 Jan 4;46(D1):D419-D427.
15. Zotova A, Pichugin A, Atemasova A, Knyazhanskaya E, Lopatukhina E, Mitkin N, Holmuhamedov E, Gottikh M, Kuprash D, Filatov A, Mazurov D. Isolation of gene-edited cells via knock-in of short glycoposphatidylinositol-anchored epitope tags. *Sci Rep*. 2019 Feb 28;9(1):3132.
16. Russell, S.J., Peng, K.W., and Bell, J.C. (2012). Oncolytic virotherapy. *Nat Biotechnol* 30, 658-670.
17. Pikor, L.A., Bell, J.C., and Diallo, J.-S. (2015). Oncolytic viruses: exploiting cancer's deal with the Devil. *Trends in Cancer* 1, 266-277.

18. Kaufman, H.L., Kohlhapp, F.J., and Zloza, A. (2015). Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. *Nat Rev Drug Discov* 14, 642-662.
19. Tunnickliffe, R.B., Hautbergue, G.M., Kalra, P., Jackson, B.R., Whitehouse, A., Wilson, S.A., and Golovanov, A.P. (2011). Structural basis for the recognition of cellular mRNA export factor REF by herpes viral proteins HSV-1 ICP27 and HVS ORF57. *PLoS Pathog* 7, e1001244.
20. Tanaka Y, Hirata S, Saleem B, Emery P. Discontinuation of biologics in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2013
21. Okada Y, Wu D, Trynka G, Raj T, Terao C, Ikari K, et al. Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature* 2014; 506:376-381.
22. Atrekhany KN, Mufazalov IA, Dunst J, Kuchmiy A, Gogoleva VS, Andruszewski D, Drutskaya MS, Faustman DL, Schwabenland M, Prinz M, Kruglov AA, Waisman A, Nedospasov SA. Intrinsic TNFR2 signaling in T regulatory cells provides protection in CNS autoimmunity. *PNAS*. 2018. 115(51):13051-13056.
23. Efimov G.A., Kruglov A.A., Khlopchatnikova Z.V., Rozov F.N., Mokhonov V.V., Rose-John S., Scheller J., Gordon S., Stacey M., Drutskaya M.S., Tillib S.V., Nedospasov S.A. Cell-type-restricted anti-cytokine therapy: TNF inhibition from one pathogenic source. *PNAS*. 2016. 113(11):3006-11.
24. Olleros ML, Chavez-Galan L, Segueni N, Bourigault ML, Vesin D, Kruglov AA, Drutskaya MS, Bisig R, Ehlers S, Aly S, Walter K, Kuprash DV, Chouchkova M, Kozlov SV, Erard F, Ryffel B, Quesniaux VF, Nedospasov SA, Garcia I. Control of Mycobacterial Infections in Mice Expressing Human Tumor Necrosis Factor (TNF) but Not Mouse TNF. *Infect Immun*. 2015. 83(9):3612-23.
25. Keffer J, Probert L, Cazlaris H, Georgopoulos S, Kaslaris E, Kioussis D, Kollias G. Transgenic mice expressing human tumour necrosis factor: a predictive genetic model of arthritis. *EMBO J*. 1991. 10(13): 4025-4031.
26. Zhang S. H., Reddick R. L., Piedrahita J. A., and Maeda N., "Spontaneous hypercholesterolemia and arterial lesions in mice lacking apolipoprotein E," *Science* 1992, vol. 258, no. 5081, pp. 468-471,
27. Baumer Y, McCurdy S, Jin X, Weatherby TM, Dey AK, Mehta NN, Yap JK, Kruth HS, Boisvert WA. Ultramorphological analysis of plaque advancement and cholesterol crystal formation in LDLR knockout mouse atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2019;287:100-111.
28. Phillips B, Szostak J, Titz B, Schlage WK, Guedj E, Leroy P, Vuillaume G, Martin F, Buettner A, Elamin A, Sewer A, Siervo N, Choukrallah MA, Schneider T, Ivanov NV, Teng C, Tung CK, Lim WT, Yeo YS, Vanscheuwijck P, Peitsch MC, Hoeng J. A six-month systems toxicology inhalation/cessation study in ApoE^{-/-} mice to investigate cardiovascular and respiratory exposure effects of modified risk tobacco products, CHTP 1.2 and THS 2.2, compared with conventional cigarettes. *Food Chem Toxicol*. 2019;126:113-141.
29. Zeibig S, Büttcher M, Goebel S, Pauli J, Hunger A, Ungerer M, Gawaz M, Münch G. The Scavenger Receptor CD68 Regulates Platelet Mediated Oxidized Low-Density Lipoprotein (oxLDL) Deposition in Atherosclerotic Vessels at an Early Stage of Atherosclerosis in LDLR^{-/-}/ApoBec^{-/-} Mice. *Cell Physiol Biochem*. 2019;52(4):681-695
30. Aoki T, Saito M, Koseki H, Tsuji K, Tsuji A, Murata K, Kasuya H, Morita A, Narumiya S, Nozaki K; MR Macrophage Imaging Study Investigators. Macrophage Imaging of Cerebral Aneurysms with Ferumoxytol: an Exploratory Study in an Animal Model and in Patients. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2017 26(10):2055-2064.
31. Hatzoglou M, Fernandez J, Yaman I, Closs E. Regulation of cationic amino acid transport: the story of the CAT-1 transporter. *Annu Rev Nutr*. 2004;24:377-99.
32. Devarajan A, Grijalva VR, Bourquard N, Meriwether D 3rd, Imaizumi S, Shin BC, Devaskar SU, Reddy ST Macrophage paraoxonase 2 regulates calcium homeostasis and cell survival under endoplasmic reticulum stress conditions and is sufficient to prevent the development of aggravated atherosclerosis in paraoxonase 2 deficiency/ApoE^{-/-} mice on a Western diet. *Mol Genet Metab*. 2012;107(3):416-27.
33. Meneghini V, Lattanzi A, Tiradani L, et al. Pervasive supply of therapeutic lysosomal enzymes in the CNS of normal and Krabbe-affected non-human primates by intracerebral lentiviral gene therapy. *EMBO Mol Med* 2016; 8(5): 489-510.

34. Rosenberg JB, Kaminsky SM, Aubourg P, Crystal RG, Sondhi D. Gene therapy for metachromatic leukodystrophy. *Journal of neuroscience research* 2016; 94(11): 1169-79.
35. Ruiz de Garibay AP, Solinis MA, Rodriguez-Gascon A. Gene therapy for fabry disease: a review of the literature. *BioDrugs* 2013; 27(3): 237-46.
36. Zerah M, Piguet F, Colle MA, et al. Intracerebral Gene Therapy Using AAVrh.10-hARSA Recombinant Vector to Treat Patients with Early-Onset Forms of Metachromatic Leukodystrophy: Preclinical Feasibility and Safety Assessments in Nonhuman Primates. *Hum Gene Ther Clin Dev* 2015; 26(2): 113-24.
37. Lupianez, D.G., Kraft, K., Heinrich, V., Krawitz, P., Brancati, F., Klopocki, E., Horn, D., Kayserili, H., Opitz, J.M., Laxova, R., et al. (2015). Disruptions of topological chromatin domains cause pathogenic rewiring of gene-enhancer interactions. *Cell* 161, 1012-1025.
38. Lupianez, D.G., Spielmann, M., and Mundlos, S. (2016). Breaking TADs: How Alterations of Chromatin Domains Result in Disease. *Trends Genet* 32, 225-237.
39. Valerieva A, Caccia S, Cicardi M. Recombinant human C1 esterase inhibitor (Conestat alfa) for prophylaxis to prevent attacks in adult and adolescent patients with hereditary angioedema. *Expert Rev Clin Immunol*. 2018 Sep;14(9):707-718.
40. Bertolini LR, Meade H, Lazzarotto CR, Martins LT, Tavares KC, Bertolini M, Murray JD. (2016) The transgenic animal platform for biopharmaceutical production. *Transgenic Res*. 25:329-43. doi: 10.1007/s11248-016-9933-9.
41. Houdebine LM. (2018) Production of pharmaceutical proteins by transgenic animals. *Rev Sci Tech*. 2018 Apr;37(1):131-139.
42. Azzarelli R et al. Neurogenin3 phosphorylation controls reprogramming efficiency of pancreatic ductal organoids into endocrine cells. *Sci Rep*. 2018 Oct 18;8(1):15374.
43. Matsuoka TA et al. MafA Enables Pdx1 to Effectively Convert Pancreatic Islet Progenitors and Committed Islet α -Cells Into β -Cells In Vivo. *Diabetes*. 2017 May;66(5):1293-1300.
44. Cavelti-Weder C et al. Reprogramming of Pancreatic Acinar Cells to Functional Beta Cells by In Vivo Transduction of a Polycistronic Construct Containing Pdx1, Ngn3, MafA in Mice. *Curr Protoc Stem Cell Biol*. 2017 Feb 2;40:4A.10.1-4A.10.12.
45. Zhang RR et al. Human iPSC-Derived Posterior Gut Progenitors Are Expandable and Capable of Forming Gut and Liver Organoids. *Stem Cell Reports*. 2018 Mar 13;10(3):780-793.
46. Bulic-Jakus F et al. Teratoma: from spontaneous tumors to the pluripotency/malignancy assay. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol*. 2016 Mar-Apr;5(2):186-209.
47. Tanenbaum ME, Gilbert LA, Qi LS, Weissman JS, Vale RD. A protein-tagging system for signal amplification in gene expression and fluorescence imaging. *Cell*. 2014 Oct 23;159(3):635-46.
48. Liu P et al. CRISPR-Based Chromatin Remodeling of the Endogenous Oct4 or Sox2 Locus Enables Reprogramming to Pluripotency. *Cell Stem Cell*. 2018 Feb 1;22(2):252-261.e4.
49. Golov AK, Razin SV, Gavrillov AA. Single-cell genome-wide studies give new insight into nongenetic cell-to-cell variability in animals. *Histochem Cell Biol*. 2016 Sep;146(3):239-54.
50. Ruggiero E, Richter S.N. G-quadruplexes and G-quadruplex ligands: targets and tools in antiviral therapy // *Nucleic Acids Research*. - 2018; 46 (7): 3270-3283.
51. Dabrowska M., Juzwa W., Krzyzosiak W.J., Olejniczak M. Precise Excision of the CAG Tract from the Huntingtin Gene by Cas9 Nickases // *Frontiers in Neuroscience*. - 2018; 12 75.
52. Wild E.J., Tabrizi S. Therapies targeting DNA and RNA in Huntington's disease // *The Lancet. Neurology*. - 2017; 16 (10): 837-847.
53. Furman M, Zhan Q, McCafferty C, Lerner BA, Motelow JE, Meng J, Ma C, Buchanan GF, Witten IB, Deisseroth K, Cardin JA, Blumenfeld H. Optogenetic stimulation of cholinergic brainstem neurons during focal limbic seizures: Effects on cortical physiology. *Epilepsia*. 2015 Dec;56(12):e198-202.
54. Ermakova YG, Lanin AA, Fedotov IV, Roshchin M, Kelmanson IV, Kulik D, Bogdanova YA, Shokhina AG, Bilan DS, Staroverov DB, Balaban PM, Fedotov AB, Sidorov-Biryukov DA, Nikitin ES, Zheltikov AM, Belousov VV. Thermogenetic neurostimulation with single-cell resolution. *Nat Commun*. 2017 May 22;8:1536.

55. Gootenberg JS, Abudayyeh OO, Lee JW, Essletzbichler P, Dy AJ, Joung J, Verdine V, Donghia N, Daringer NM, Freije CA, Myhrvold C, Bhattacharyya RP, Livny J, Regev A, Koonin EV, Hung DT, Sabeti PC, Collins JJ, Zhang F. Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. *Science*. 2017 356(6336):438-442.

56. Gootenberg JS, Abudayyeh OO, Kellner MJ, Joung J, Collins JJ, Zhang F. Multiplexed and portable nucleic acid detection platform with Cas13, Cas12a, and Csm6. *Science*. 2018 360(6387):439-444.

57. Chen JS, Ma E, Harrington LB, Da Costa M, Tian X, Palefsky JM, Doudna JA. CRISPR-Cas12a target binding unleashes indiscriminate single-stranded DNase activity. *Science*. 2018 360(6387):436-439.

58. Gryadunov DA, Shaskolskiy BL, Nasedkina TV, Rubina AY, Zasedatelev AS. The EIMB Hydrogel Microarray Technology: Thirty Years Later. *Acta Naturae*. 2018 10(4):4-18.

1.3. Возможность внедрения результатов программы исследования, в том числе, включая планы по привлечению индустриальных партнеров и инвестиций

Уверенность участников Центра в возможности внедрения результатов исследований Центра определяется несколькими причинами:

1. Наличием действительно заинтересованных в результатах исследований индустриальных партнеров с солидной репутацией, таких как крупнейшие на рынке Российской Федерации биомедицинские и фармакологические компании BIOCAD, Евроген, Русхимбио. Многолетняя работа этих компаний на рынке свидетельствует о высокой квалификации индустриальных партнеров, их большом ресурсном потенциале и финансовой устойчивости.

2. Как свидетельствуют письма индустриальных партнеров (см. *Приложение №6 к форме 4*), они являются потенциальными конечными пользователями результатов большей части научных мероприятий. У каждого из представленных партнеров есть достаточно число продуктовых линеек, которые являются зонами компетенций коллективов Центра и в рамках развития которых необходима разработка принципиально новых комплексных решений дифференциальной диагностики и поиска эффективных терапевтических подходов. Участие компаний - потенциальных пользователей результатов в процессе исследований и их софинансировании увеличивает вероятность внедрения в практику результатов работ Центра.

3. Наличием ассоциированных с организациями – участниками Центра компаний (ЗАО «Евроген», ООО «БИОЧИП-ИМБ»). Участие в реализации проекта аффилированных компаний может повысить результативность проектов, их практическую направленность и, как следствие, коммерциализацию результатов. Как пример, можно привести дочернюю компанию ИМБ РАН – ООО «БИОЧИП-ИМБ». Компания лицензирует интеллектуальную собственность ИМБ РАН, вкладывая собственные средства в развитие производства гидрогелевых биочипов и маркетинг. Компания оснащает наборами реагентов для анализа лекарственной устойчивости туберкулезной палочки и оборудованием для анализа биочипов более 50 государственных и частных медицинских центров и 8 бактериологических лабораторий ФСИН.

4. Большим числом созданных коллективами-участниками Центра и планируемых к созданию объектов интеллектуальной собственности, которые говорят о большой степени защиты создаваемых ноу-хау и свидетельствуют о способности Центра к продуктивной реализации интеллектуальной собственности в соответствии с пайплайном: формирование и учет нематериальных активов – трансфер и коммерциализация результатов интеллектуальной деятельности.

5. У организаций – участников Центра имеются свидетельства об аккредитации на право проведения клинических исследований лекарственных препаратов для медицинского применения (РНИМУ им. Н.И. Пирогова, ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России), лицензия на осуществление деятельности в области использования возбудителей инфекционных заболеваний человека и

животных (за исключением случая, если указанная деятельность осуществляется в медицинских целях) и генно-инженерно-модифицированных организмов III и IV степени потенциальной опасности, осуществляемой в замкнутых системах (ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России) и одно из первых в нашей стране свидетельство об аккредитации на право проведения клинических исследований биомедицинских клеточных продуктов (РНИМУ им. Н.И. Пирогова). Наличие этих разрешительных документов сделает возможным проведение доклинических и клинических исследований и кардинально ускорит продвижение на рынок кандидатных лекарственных средств и биомедицинских клеточных продуктов, получение которых будет результатом исследований Центра.

6. Наличием «точек роста» для партнерства с представителями биомедицинской индустрии. Так, компании ООО «Фармапарк» и НПП «Панэко» пока не являются индустриальными партнерами Центра, но выступают в качестве потенциальных покупателей продукта по Мероприятиям 2.1.2, 2.1.3 или принимают участие в совместных разработках (Мероприятие 2.2.4).

7. Наконец, полезные свойства потенциальных продуктов исследований, не имеющие аналогов в мире, направленные на лечение социально значимых заболеваний и на решение серьезнейших биотехнологических проблем, вызвали заинтересованность большого числа ведущих медицинских учреждений. Письма поддержки свидетельствуют о большой востребованности результатов исследований Центра в реальных структурах здравоохранения и других секторах экономики.

В рамках Мероприятия М2.1.1 *«Предклинические модели и исследования активности прототипов новых лекарств в генетически модифицированных и гуманизированных мышцах»* в качестве индустриального партнера выступает компания BIOCAD, ведущая в России инновационная биотехнологическая компания полного цикла. Интересными для этой компании представляются сразу несколько направлений исследований. Во-первых, это линии мышей с гуманизацией по генам цитокинов (TNF, IL-6) для сравнительной оценки эффективности блокаторов цитокинов, которые разрабатывает компания для клиники аутоиммунных заболеваний. Во-вторых, это получение линии мышей с одновременной гуманизацией рецептора и лиганда негативной костимуляции, перспективных мишеней для иммунотерапии, проведение экспериментов по химически-индуцированному канцерогенезу на этой линии мышей для исследования противоопухолевой сравнительной оценки эффективности соответствующих *in vivo*, и исследования изменений состава микрофлоры кишечника на фоне анти-PD-1 терапии, а также поиск подходов к селективной манипуляции составом микробиоты с использованием иммуноглобулинов. Касаясь актуальной проблемы импортозамещения, отметим, что покупка за рубежом ценных лабораторных животных с отредактированным для задач биомедицины геномом сопряжена со многими сложностями. Помимо дороговизны и логистических проблем, следует учитывать, что все наиболее ценные линии таких животных распространяются в соответствии с лицензионными соглашениями, которые зачастую не допускают их использование, например, в доклинических испытаниях, кроме того, доступные источники лабораторных животных за рубежом являются коммерческими организациями и в любой момент могут стать объектом экономических санкций.

Результаты мероприятия М2.2.1 *«Создание модифицированных генетических систем на основе онколитических вирусов и иммунных клеток для повышения селективности и эффективности иммунотерапии»* будут востребованы Федеральным научным центром исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова, который специализируется на производстве вирусных вакцин и имеет сертификацию по GMP. На базе Центра возможно производство как вирусных препаратов для онколиза, так и ряда клеточных иммунотерапевтических систем. Свою заинтересованность в результатах мероприятия выразил BIOCAD – компания, специализирующаяся на выпуске биотехнологических терапевтических средств. Компания проявляет интерес к разработке инновационных иммунотерапевтических препаратов. Онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина может стать базой для проведения клинических испытаний разработанных препаратов онколитических вирусов и средств их доставки на основе иммунных клеток, а Институт нейрохирургии им. Академика Н.Н. Бурденко –

для проведения клинических испытаний препаратов онколитических вирусов, предназначенных для лечения злокачественных опухолей головного мозга.

Разрабатываемая в мероприятии М2.2.2 *«Платформа для идентификации мотивов последовательностей Т-клеточных рецепторов с известной специфичностью, а также ассоциированных с определенными заболеваниями»* платформа будет востребована отечественными и зарубежными компаниями, ведущими разработки диагностических тестов и иммунотерапевтических подходов в области аутоиммунных, инфекционных и онкологических заболеваний. В частности, потенциальным индустриальным партнером проекта является фармкомпания BIOCAD. В рамках текущего сотрудничества коллектива с компанией BIOCAD, для болезни Бехтерева (анкилозирующий спондилит), с использованием разработанных коллективом алгоритмов анализа данных, были выявлены консенсусные варианты последовательностей Т-клеточных рецепторов, четко ассоциированные с заболеванием. Совместно с компанией BIOCAD создано первое в мире терапевтическое антитело для секторальной супрессии Т-клеточного иммунитета (ССТИ), то есть направленное на избирательную элиминацию группы Т-лимфоцитов, включающей аутоиммунные клоны при этих заболеваниях. На модели макак резусов показано, что антитело позволяет высокоэффективно и безопасно элиминировать узкую популяцию Т-лимфоцитов, включающую консенсусные варианты, ассоциированные с заболеванием у человека. По этому направлению планируется переход к клиническим испытаниям, составной частью которых станет диагностика по репертуару Т-клеточных рецепторов, позволяющая идентифицировать таргетный клон Т-лимфоцитов и назначить терапию. Этот пример показывает потенциал востребованности диагностических тестов по анализу репертуаров Т-клеточных рецепторов для назначения определенного типа иммунотерапии.

В настоящее время совместно с Приволжским окружным медицинским центром, коллективом ведется работа по поиску консенсусных вариантов Т-клеточных рецепторов при диабете 1 типа и получению терапевтических моноклональных антител. Аналогичным образом, для назначения такого препарата, потребуется анализ индивидуального репертуара Т-клеточных рецепторов и выявления наличия ассоциированного клона Т-лимфоцитов – мишени для терапевтического вмешательства.

НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева также подчеркивает наличие большой клинической перспективы у данного направления.

Результаты, полученные в процессе выполнения мероприятия М1.2.1 *«Исследование механизма транс-сплайсинга и неканонической терминации транскрипции у высших эукариот»*, позволят расшифровать механизм блокирования синтеза химерных мРНК и разработать в будущем эффективные диагностикумы патологических процессов в клетках, связанных с нарушениями сплайсинга протяженных интронов.

Успешное развитие мероприятия М1.2.2 *«Изучение механизмов сборки регуляторных белковых комплексов на хроматине и нарушений 3D генома в развитии генетических заболеваний с применением CRISPR/Cas-системы»* даст задел для дальнейшего поиска субстанций (эпигенетических лекарств), модулирующих пространственную организацию генома и влияющих на работу клеточных систем, определяющих дифференциальную экспрессию генов в специализированных клетках. Такие субстанции в будущем могут быть востребованы для внедрения в практику.

Разрабатываемыми в мероприятии М1.2.3 *«Исследование генетических основ заболеваний человека при помощи высокоточного геномного редактирования короткоживущих рыб»* моделями для изучения эффективности генотерапевтических воздействий при остеопорозе, саркопении, нейродегенерации и опухолеобразовании заинтересована компания «РУСХИМБИО», которая рассматривает данное мероприятие как создание задела для последующей разработки генотерапевтических препаратов для лечения возраст-зависимых патологий.

Результаты мероприятия М2.1.2 *«Генетическая модификация и гуманизация мышей для создания моделей сердечно-сосудистых патологий человека»* имеют прямое практическое значение для медицины, биотехнологии и фармацевтики. Продуктом реализации данного мероприятия будут линии генетически-модифицированных мышей с нокаутом генов SLC7A1, PON2, FHN-1, PHD-2, кодирующих белки, принимающие участие в различных путях метаболизма в эндотелии сосудов. Наиболее перспективной областью применения полученных линий является их использование в качестве моделей для скрининга и оценки эффективности классических и инновационных фармакологических агентов. Животные с генетической модификацией SLC7A1 и PON2 будут репрезентативной тест-системой для изучения атеропротективных средств с NO-эргической и антиоксидантной активностью. Мыши с тканеспецифичным подавлением активности PHD2 и FHN1 будут демонстрировать усиление экспрессии HIF-1 в эндотелии, что позволит проводить доклинические исследования эндотелиопротективных, антиагрегантных, противовоспалительных, метаболитных и некоторых противоопухолевых препаратов.

Предполагается, что модели мышей, гуманизированные по генам человека, кодирующим факторы крови, созданные в рамках мероприятия М2.1.3 *«Исследование потенциала гуманизации мышей и кроликов по белкам крови и создание гуманизированных кроликов-продуцентов биологически активных антитромбина и С1-ингибитора человека в молоке»*, станут основной для получения гуманизированных моделей по специальным заказам компаний, занимающихся разработкой генотерапевтических средств. Вероятными индустриальными партнерами этих проектов могут выступать компании BIOCAD, Фармапарк и другие, заинтересованные в моделях сердечно-сосудистых заболеваний, болезней крови и производстве рекомбинантных человеческих белков крови в качестве терапевтических средств для лечения орфанных заболеваний.

Технологии термогенетики, разрабатываемые в мероприятии М2.1.4 *«Термогенетические технологии управления активностью клеток мозга для стимуляции нейрогенеза»*, позволят найти подходы к коррекции различных нейропатологий, связанных с нейродегенерацией и гибелью нейронов в травматических или ишемических патологиях головного мозга и периферической нервной системы. Комбинируя полученные данные по стимуляции нейрогенеза со стремительно развивающимися новыми методами таргетной доставки лекарственных препаратов через локально и временно разрушенный гемато-энцефалический барьер, можно будет стимулировать нейрогенез в самом широком спектре заболеваний мозга. Все эти разработки могут быть интересны для индустриальных фармпартнеров, в портфеле которых присутствуют нейродегенеративные заболевания.

В результате совершенствования правовой базы в РФ станет возможным начало клинических исследований эффективности редактирования патогенных генетических вариантов в соматических клетках человека. Тогда результаты мероприятия М2.2.3 *«Подходы к соматической коррекции патологических генетических вариантов, связанных с развитием наследственных заболеваний у детей»* станут инвестиционно привлекательными для индустриальных партнеров, заинтересованных во внедрении в клинику разрабатываемых подходов, которые позволят в значительной степени экономить бюджетные средства, ежегодно расходуемые на дорогостоящую ферментозаместительную терапию (более 15 млрд. руб. в 2017 г. по данным Минздрава РФ).

При реализации мероприятия М2.2.4 *«Разработка изогенных клеточных систем для скрининга новых терапевтических молекул против нейродегенеративных полиглутаминовых заболеваний»* будет продемонстрирована возможность использования разрабатываемых модифицированных олигонуклеотидов в качестве лекарственных средств для терапии полиглутаминовых нейродегенеративных заболеваний, для которых в настоящее время нет лечения, направленного на ликвидацию самой причины болезни. Будет получен новый оригинальный кандидатный препарат или набор препаратов, который после прохождения всех регистрационных процедур, связанных с проведением GLP доклинических исследований и клинических исследований в соответствии с GCP по безопасности и эффективности, может стать препаратом первой линии для пациентов с такими нозологиями. Будет разработан фундаментальный подход, позволяющий проводить дизайн целой линейки олигонуклеотидов для

лечения других типов заболеваний, связанных с увеличением олигонуклеотидных повторов в функциональных генах. Введение такого препарата в клиническую практику может значительно увеличить продолжительность и качество жизни пациентов, страдающих полиглутаминовыми нейродегенеративными заболеваниями, а также продлить их работоспособность.

Изогенные линии ИПСК, полученные методом геномного редактирования, могут быть использованы фармацевтическими компаниями для скрининга лекарственных средств, а нейроны, дифференцированные из ИПСК с исправленными мутациями, могут служить прототипом БМКП для клеточной терапии при полиглутаминовых заболеваниях.

В результате выполнения мероприятия М2.2.5 «Разработка клеточной модели невосприимчивости к инфекции ВИЧ-1 на основе генетически-кодированных пептидных ингибиторов» будет создан готовый технологический продукт, который можно будет внедрять в клиническую практику в качестве генотерапевтического подхода лечения больных СПИДом. Разработанный метод SORTS может использоваться в научно-исследовательских целях для создания клеточных моделей нокауты в том числе на коммерческой основе. Индустриальным партнером технологии SORTS может стать компания BIOCAD, которая возьмет на себя производство моноклональных антител к селекционным эпитопам и протективным пептидам.

В мероприятии М2.2.6 «Разработка технологии репрограммирования аутологичных фибробластов кожи для лечения диабета 1-го типа» в качестве потенциальных индустриальных партнеров рассматриваются биотехнологические компании соответствующего профиля и обладающих набором компетенций:

- ЗАО «Евроген» (производство наборов для ДНК и РНК технологий, упаковка лентивирусных генетических конструкторов, производство диагностических наборов) - могут быть заинтересованы в производстве наборов генетических конструкторов для репрограммирования аутологичных фибробластов кожи в инсулин-продуцирующие клетки.

- ЗАО «Генериум» (производство фармацевтических и биомедицинских препаратов, включая рекомбинантные белки, клеточные технологии, биомедицинские клеточные продукты) – могут быть заинтересованы в производстве БМКП для лечения диабета 1-го типа

- ЗАО BIOCAD (производство фармацевтических и биомедицинских препаратов, включая рекомбинантные белки, клеточные технологии, биомедицинские клеточные продукты) – могут быть заинтересованы в производстве БМКП для лечения диабета 1-го типа

В рамках мероприятия М2.2.7 «Геномные и постгеномные технологии для преодоления проблем устойчивости злокачественных опухолей к лекарственной терапии» будут разработаны и запатентованы неинвазивные диагностические панели для мониторинга эффективности лечения и детекции резистентных опухолевых клонов при карциномах яичника, молочной железы и прямой кишки. Полученные данные с различных омиксных платформ будут обладать потенциальным практическим значением, поскольку создадут основу для предложения коррекции существующей схемы лекарственной терапии опухолей. Оптимальная схема комбинированной химиотерапии, основанной на сочетании традиционных химиопрепаратов и потенциальных ингибиторов коммуникации между погибающими и выжившими опухолевыми клетками, может значительно увеличить продолжительность и качество жизни пациентов с онкологическими заболеваниями.

Разработка инновационных подходов к диагностике и лечению онкологических пациентов, направленных на персонализированный подбор противоопухолевых препаратов, представляет большой интерес для медицинских учреждений, в частности для Национального медицинского исследовательского центра онкологии имени Н.Н. Петрова, Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова, Клинической больницы №123 ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России.

Использование штамма, продуцирующего рапамицин, как синтетического пробиотика, полученного в результате выполнения мероприятия М2.2.8 «Разработка синтетических

пробиотиков для терапии возрастных заболеваний», позволит существенно снизить стоимость препарата, улучшить параметры биодоступности и фармакинетики и снизить побочные эффекты, особенно при хроническом применении как геропротектора. В данной разработке заинтересована компания «РУСХИМБИО».

Новые редакторы, которые будут получены при выполнении мероприятия М2.3.1 *«Разработка новых инструментов геномного редактирования в клетках эукариот»*, являются востребованными на рынке в связи с поиском оптимальных по эффективности действия и отсутствию неспецифических активностей. Новые эффективные редакторы расширят возможности применения технологий редактирования генома в медицине и биотехнологическом производстве. В ближайшей перспективе в качестве индустриального партнера, заинтересованного в применении новых редакторов, может выступить BIOCAD.

Тестируемые и адаптируемые для решения конкретных задач редакторы и подходы геномного редактирования в рамках мероприятия М2.3.2 *«Усовершенствованные подходы геномного редактирования и доставки в модельных системах in vivo»* могут быть востребованы биотехнологическими предприятиями. Разрабатываемый подход сборки in vitro эффекторного комплекса позволит упростить процедуры внесения сложных изменений в геном, что является, в частности, незаменимым шагом при создании моделей заболеваний с кондиционными мутациями. Система эффективной адресной доставки системы редактирования генома в определенные ткани является востребованным подходом при разработке генотерапевтических решений. В качестве заинтересованного партнера развития проекта может выступить BIOCAD, который в последнее время активно занимается разработкой и доведением до рынка генотерапевтических препаратов с направленной доставкой в определенные клетки организма.

В рамках мероприятия М2.3.3 *«Новые подходы к подавлению негомологичной рекомбинации для встраивания в геномы протяженных фрагментов ДНК»* будет разработан и запатентован усовершенствованный метод редактирования геномов, который позволит встраивать большие фрагменты ДНК – гены или регуляторные элементы, для избирательного активирования и модификаций генов, ассоциированных с патологическими процессами и генетическими заболеваниями.

В рамках мероприятия М2.3.4 *«Система редактирования генома CRISPR-Cas9 с повышенной эффективностью гомологичной рекомбинации»* будет разработан, запатентован, зарегистрирован как медицинское изделие набор реагентов (система редактирования генома с преимущественным редактированием по типу гомологичной рекомбинации) для геномного редактирования in vitro и выведен на рынок. В результатах заинтересована компания BIOCAD.

В рамках мероприятия М2.4.1 *«Создание CRISPR-биосенсоров для многопараметрического анализа молекулярных маркеров социально значимых заболеваний»* будут разработаны, запатентованы, зарегистрированы как медицинское изделие (набор реагентов) для диагностики in vitro в Федеральной службе по надзору в сфере здравоохранения РФ (Росздравнадзор) и выведены на рынок биосенсоры для анализа генетических детерминант устойчивости возбудителя туберкулеза, гонококковой инфекции к широкому спектру актуальных противомикробных препаратов. Будет создан биосенсор для проведения «жидкой неинвазивной биопсии» пациента с целью обнаружения мутаций в свободно циркулирующей опухолевой ДНК, ассоциированных с вторичной устойчивостью к таргетной терапии. Будет создана портативная система на основе CRISPR-биосенсора для идентификации возбудителей клещевых инфекций, проведены ее испытания в полевых условиях

С целью доведения платформы CRISPR-биосенсоров и приложений на ее основе до производственного уровня и государственной регистрации в Росздравнадзоре будет привлечена дочерняя компания ИМБ РАН – ООО «БИОЧИП-ИМБ». Компания лицензирует интеллектуальную собственность ИМБ РАН, вкладывая собственные средства в развитие производства гидрогелевых биочипов и маркетинг наборов реагентов и оборудования. Компанией создано собственное производство тест-систем, включая производственный цех площадью около

150 кв.м. с чистым воздухом по классу D, контролируемые давлением, влажностью и температурой. Цех оборудован новейшими приборами, в том числе оригинальными роботами, что позволяет изготавливать до трех тысяч биочипов в смену с контролем качества каждого изготовленного биочипа. В 2012 г. производство ООО «БИОЧИП-ИМБ» было сертифицировано согласно международной системе менеджмента качества по стандарту ISO 13485. Компания выпускает ряд тест-систем и оборудование для диагностики *in vitro*, имеющих Регистрационные удостоверения Росздравнадзора. Компания оснащает наборами реагентов и оборудованием для анализа биочипов более 50 государственных и частных медицинских центров, 8 бактериологических лабораторий ФСИН. Компанией представлено письмо поддержки настоящего проекта.

Еще одним индустриальным партнером мероприятия М2.4.1 является российский гигант – фармкомпания ЗАО «БИОКАД». Компания выразила свой интерес в создании CRISPR-биосенсоров для мультиплексного анализа соматических мутаций в свободно циркулирующей опухолевой ДНК, в первую очередь, ассоциированных с вторичной устойчивостью к таргетной терапии, а также в мероприятии М.2.4.2 по разработке программного комплекса интерпретируемой оценки целевой и нецелевой активности эффекторного комплекса CRISPR-Cas при помощи глубоких нейронных сетей.

Разрабатываемая технология полноэкзомного обогащения позволит наладить выпуск отечественных наборов реагентов, значительно снизив стоимость секвенирования. Индустриальным партнёром мероприятия М2.4.4 «создание набора реагентов для полноэкзомного обогащения библиотеки фрагментов ДНК перед высокопроизводительным секвенированием» является компания «Евроген».

1.4. Обоснование реализуемости предлагаемой программы научных исследований

Реализуемость мероприятий Центра обеспечивается несколькими факторами:

1. Высоким научным и технологическим уровнем каждого коллектива, входящего в состав Центра, который подтверждается публикациями в высокорейтинговых журналах первого квартала.

2. Прорывными тематиками планируемых мероприятий, каждое из которых согласуется с мировыми трендами развития биомедицины и, во многих случаях, определяет их. Все мероприятия Центра полностью соответствуют заявленным результатам ФНТП ГТ по направлению «Генетические технологии для медицины».

3. Высоким уровнем заинтересованности ведущих медицинских центров и наукоемких биомедицинских компаний страны в результатах научных и технологических исследований по предлагаемым мероприятиям, которые подтверждены письмами индустриальных партнеров и письмами поддержки от ведущих медицинских учреждений России.

4. Высоким уровнем заинтересованности ведущих зарубежных лабораторий в сотрудничестве с коллективами Центра, которые подтверждены письмами настоящих и будущих коллабораторов и существующими совместными публикациями.

5. Высоким уровнем технической оснащенности коллективов Центра, уникального и активно используемого оборудования, ЦКП, оригинальных методик и технологий, в том числе защищенных патентами.

6. Большим числом созданных и планируемых объектов интеллектуальной собственности по тематикам мероприятий.

7. Серьезным кадровым потенциалом Центра, который подтверждается наличием базовых кафедр в ведущих ВУЗах страны, высоким процентом молодых ученых, участвующих в

мероприятиях Центра. Молодые исследователи уже зарекомендовали себя в международном научном сообществе за счет высокого уровня публикаций, что создает кадровый резерв и обеспечит преемственность в процессе выполнения проектов Центра.

Первые технологии модификации генома млекопитающих, основанные на редактировании генома эмбриональных стволовых клеток, были разработаны в 80-х годах прошлого века. Участники мероприятий M1.1.1 и M2.1.1 планируют создание и применение животных моделей на основе генетически модифицированных и гуманизированных мышей для изучения механизмов патологического воспаления и предклинических моделей для исследования активности прототипов новых лекарств. Коллектив был первым в России, кто получил мышей с отредактированным геномом с использованием LoxP-Cre технологии. За последние 20 лет, используя эту технологию для получения уникальных линий мышей с полной и тканеспецифичной инактивацией генов и применяя методы обратной генетики, были установлены ключевые функции цитокинов в развитии и поддержании работы иммунной системы в норме и при развитии заболеваний (Kuprash et al., 1999; Tumanov et al., 2002; Kuprash et al., 2002; Grivennikov et al., 2005; Kuprash et al., 2005; Liepinsh et al., 2006; Tumanov et al., 2010; Kruglov et al., 2011; Atretkhany et al., 2018; Gubernatorova et al., 2018). На основе полученных результатов даны объяснения для некоторых существующих терапевтических подходов (Zhang et al., 2016; Lemos et al., 2015). Были открыты новые функции цитокинов вне иммунной системы (Kroetsch et al. 2018). В результате генетических исследований была разработана новая концепция лечения аутоиммунных и воспалительных состояний (Nosenko et al., 2017; Gubernatorova et al., 2017; Efimov et al., 2016; Yagi et al., 2015), изучены структурно-функциональные взаимодействия бактерий, в том числе комменсальной микрофлоры кишечника и на фоне сепсиса, с иммунной системой млекопитающих (Kruglov et al., 2013; Korneev et al., 2015; Van Praet et al., 2015; Piliponsky et al., 2019), обоснованы новые экспериментальные модели заболеваний (Gubernatorova et al., 2019; Gubernatorova et al., 2016; Winsauer et al., 2015; Shebzukhov et al., 2014). В ходе проекта будут задействованы как классическая генетическая технология, полногеномный ENU-мутационный скрининг, так и технологии обратной генетики (с использованием CRISPR/Cas9 и других геномных нуклеаз, систем рекомбинации Cre-LoxP, FLP-FRT и других) для получения новых линий мышей и их дальнейшего фенотипирования в контексте экспериментальных моделей заболеваний человека.

Мероприятие M1.1.2 посвящено исследованию вклада механизмов противовирусной защиты клеток и рецепторов иммунных контрольных точек в эффективность вирусного онколиза. Мероприятие M2.2.1, планируемое к исполнению тем же коллективом, предполагает создание модифицированных генетических систем на основе онколитических вирусов и иммунных клеток для повышения селективности и эффективности иммунотерапии. Проекты имеют важнейшее практическое значение для медицины, так как на результатах этих исследований могут базироваться подходы к терапии рака, основанные на естественных механизмах уничтожения патологических клеток в организме. Для создания более эффективных и универсальных клеточных систем доставки вирусов в опухоль планируется вводить модификации в гены иммунных клеток, в частности дендритных клеток, путем нокаута генов системы индукции интерферона и гены интерферонового ответа. Такие клетки будут беспрепятственно размножать онколитические вирусы по пути их доставки в опухоль при системном введении. Иммунные клетки будут также модифицированы по рецепторам хемокинов, что позволит проводить коррекцию их направленной миграции в сторону очагов расположения опухолевых клеток (метастазов). На выходе будут получены продукты, которые будут далее рассматриваться в качестве препаратов для клинического использования. Полученные линии модифицированных иммунных клеток будут подвергаться доклиническим испытаниям на моделях *in vitro*, а также на лабораторных животных. Такие исследования позволят обрабатывать отдельные компоненты технологии доставки онколитических вирусов в диссеминированные опухолевые очаги, а также осуществлять иммунотерапевтическое действие в качестве активных противоопухолевых эффекторных клеток при их адоптивном переносе *in vivo*. Планируемые научные исследования соответствуют переднему краю развития знаний в области молекулярно-генетических

механизмов, контролирующих противоопухолевый иммунный надзор. Коллектив состоит из исследователей, получивших мировую известность за работы с генами опухолевых супрессоров, и в целом в области молекулярной онкологии (Sablina et al., 2005, Matveeva et al., 2015). Осуществление поставленных задач станет важным вкладом в разработку инновационных подходов к системной терапии злокачественных заболеваний, придаст новый импульс к движению в сторону создания природоподобных терапевтических подходов и клеточных терапевтических систем нового поколения.

Разработке индивидуальных высокоспецифических методов иммунотерапии посвящены проекты двух мероприятий: M1.1.3, целью которого является систематизация знаний о T-клеточных рецепторах с определенной антиген-специфичностью, а также ассоциированных с определенным состоянием организма, и M2.2.2 по созданию платформы для идентификации мотивов последовательностей T-клеточных рецепторов с известной специфичностью, также ассоциированных с определенными заболеваниями. Научный коллектив обладает необходимым опытом решения широкого ряда фундаментальных, прикладных, технологических и конструкторских задач. Коллективом разработаны одни из лучших в мире методы получения библиотек генов T-клеточных рецепторов и антител для высокопроизводительного секвенирования с использованием так называемого «уникального молекулярного баркодирования»; алгоритмы извлечения репертуаров T-клеточных рецепторов и антител из данных высокопроизводительного секвенирования, повышения качества данных, коррекции ошибок секвенирования, исправления количественных искажений, и нормировки данных; алгоритмы сравнительного анализа получаемых репертуаров T-клеточных рецепторов и антител, функциональной интерпретации получаемых данных; алгоритмы для количественного слежения за судьбой клональных популяций T-лимфоцитов во времени и различных образцах; алгоритмы кластеризации вариантов T-клеточных рецепторов, распознающих один и тот же антиген; алгоритмы идентификации групп вариантов T-клеточных рецепторов, вовлеченных в текущий иммунный ответ. Коллективом также создана первая в мире база данных T-клеточных рецепторов с известной специфичностью, VDJdb (<https://vdjdb.cdr3.net/>). С использованием этих технологий коллективом проведен цикл работ по исследованию адаптивного иммунитета в норме, при патологии и в ходе терапии. В частности, изучены закономерности формирования и развития T-клеточного иммунитета и его изменений в ходе старения. Исследованы репертуары T-клеточных рецепторов однояйцевых близнецов. Исследован первичный и вторичный ответ на живую вакцину желтой лихорадки. Открыта уникальная способность долгоживущих грызунов сохранять разнообразие репертуара T-клеточных рецепторов на протяжении всей жизни. Совместно с центром Дмитрия Рогачева изучена динамика восстановления T-клеточного иммунитета при гаплоидентичной аллогенной трансплантации T-деплецированных клеток крови. Впервые показана полноценная адаптивная природа гамма-дельта T-лимфоцитов. Открыты новые функциональные подтипы регуляторных и цитотоксических T-лимфоцитов. Впервые показано, что доминирование крупных клональных экспансий IgG1 антител, производимых B-клетками в непосредственном опухолевом микроокружении, ассоциировано с драматически более благоприятным прогнозом при меланоме. Для аденокарциномы легкого впервые показано, что наличие конкретных драйверных мутаций выраженно ассоциировано с влиянием B-клеточного окружения на развитие противоопухолевого ответа. Ведется активная работа, направленная на получение реального практического результата в области онкологии, – с НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина и Приволжским окружным медицинским центром, и онкогематологии – с центром Дмитрия Рогачева. Разработанные коллективом молекулярно-биологические и биоинформатические подходы к получению и количественному анализу данных по репертуарам T-клеточных рецепторов и антител, в том числе с использованием «уникального молекулярного баркодирования», сегодня широко используются в биомедицинских исследованиях во множестве лабораторий и компаний по всему миру.

Дальнейшее развитие созданного задела в исследовании репертуаров T-клеточных рецепторов и доведение его до реальных диагностических и терапевтических приложений в медицинской

практике требует создания эффективной платформы для получения и систематизации знаний о специфичности Т-клеточных рецепторов, развития базы данных и алгоритмов сравнительного анализа иммунных репертуаров для выявления диагностически и терапевтически значимых паттернов.

Онкоген-специфические аутоантигены образуются, в основном, из-за изменения экспрессии генов в опухолевых клетках, в этих процессах активно задействованы механизмы альтернативного сплайсинга. Цель мероприятия **M1.2.1** – установить механизм транс-сплайсинга, посредством которого формируются химерные молекулы РНК, определить механизм неканонической терминации транскрипции и ее распространенность в геноме, разработать и апробировать новые подходы для специфической идентификации и выделения ДНК- и РНК-связывающих белковых комплексов с конкретной нуклеотидной последовательностью при помощи специфичного мечения Cas-белками. В ходе выполнения мероприятия будут рассмотрены следующие проблемы: консервативность последовательностей, необходимых для транс-сплайсинга, механизм транс-сплайсинга, механизм альтернативной терминации транскрипции и роль архитектурных белков в этом процессе, идентификация белков, участвующих в транс-сплайсинге, метод идентификации белков, участвующих в транс-сплайсинге с помощью модифицированных Cas-белков, исследование функций белков, участвующих в транс-сплайсинге. Исполнители настоящего проекта имеют большой опыт в геномной инженерии, редактировании генома дрозофилы, создании модельных систем *in vivo*, анализе транскрипции. В ходе анализа предварительных экспериментов был предложен один из возможных механизмов транс-сплайсинга (Tikhonov et al., 2018). В работах коллектива рутинно используются методы полногеномного анализа.

Регуляция экспрессии эукариот в норме и патологии осуществляется не только за счет взаимодействия отдельных генов, белков и регуляторных элементов генома. Очень важный вклад в эти процессы вносит трехмерная структура хроматина. Мероприятие **M1.2.2** ставит целью определение механизмов сборки регуляторных белковых комплексов на хроматине и нарушений 3D генома в развитии генетических заболеваний с применением CRISPR/Cas-системы. В рамках проекта будут раскрыты принципы формирования 3D генома и будет разработана стратегия разделения структурно-функциональных доменов генома, позволяющая подавить активацию онкогенов контролирующими их суперэнхансерами посредством модификации 3D генома. Ранее авторы проекта мероприятия продемонстрировали, что пограничные участки структурно-функциональных доменов генома характеризуются высоким уровнем ацетилирования гистонов. Между тем, к возникновению опухолей приводят редкие события, которые происходят в индивидуальных клетках и не могут быть замечены при популяционном анализе. В этой связи планируется анализ 3D-организации генома индивидуальных клеток с использованием оригинального протокола, разработанного ранее в коллективе. Также планируется продолжить поиск низкомолекулярных агентов, препятствующих росту раковых клеток посредством нарушения пространственных контактов энхансеров и промоторов. Первые агенты такого рода были недавно охарактеризованы коллективом – исполнителем мероприятия. Члены коллектива являются одними из мировых лидеров в работах по изучению белковых комплексов различной активности и структурно-функционального описания отдельных доменов архитектурных белков, что отражено в публикациях в ведущих мировых изданиях (Nature, Genome Research, Nature communications и др.).

Как уже было отмечено выше, современные биомедицинские исследования невозможны без создания животных моделей, в том числе гуманизированных. Мероприятие **M1.2.3** предлагает новые *in vivo* модели для изучения генетических детерминант хронических возраст-зависимых заболеваний человека. Целью работы является создание *in vivo* моделей для исследования социально значимых заболеваний человека, включая атеросклероз, болезнь Паркинсона и ряд онкологических заболеваний, на основе редактирования генома рыб. Коллектив проводит многолетние исследования в области генетических основ заболеваний человека, в том числе на различных модельных организмах на базе оснащенного современным оборудованием Центра коллективного пользования «ГЕНОМ». Впервые в рамках данного мероприятия будет изучен

потенциал создания моделей *in vivo* социально значимых заболеваний человека на основе редактирования генома рыб рода *Nothobranchius* – *N. furzeri* и *N. rachovii*, а также рыб подродов *Adiniops* и *Zononothobranchius*. Будет проведена оценка перспективности CRISPR-опосредованной активации (CRISPRa) гомологов генов человека, ассоциированных с устойчивостью к стрессу, для предотвращения онкологических и хронических заболеваний на модели короткоживущих рыб рода *Nothobranchius*. В настоящий момент создана коллекция видов короткоживущих рыб и освоены методы их культивирования. В качестве индустриального партнера привлечена компания ООО «РусХимБио». Ключевым международным партнером в заявленном исследовании выступает Дарио Риккардо Валенцано, руководитель Группы эволюционной и экспериментальной биологии старения Института биологии старения Общества Макса Планка (Германия), который выразил согласие оказывать методическую помощь в реализации задач исследования и ежегодно принимать сотрудников проекта на стажировку.

Мероприятие **M2.1.2** посвящено генетической модификации и гуманизации мышей для создания моделей сердечно-сосудистых патологий человека. Реализуемость планов работ по мероприятию подтверждается большим опытом коллектива авторов этого проекта в создании и исследованиях генетически-модифицированных и генетически-редактированных модельных животных, в том числе с применением Cre-LoxP модификаций в геноме. В проекте планируется усовершенствовать технологии внесения комплексных изменений в геном мышей, что позволит создавать кондиционные нокауты генов-мишеней. Работа будет направлена на получение мышей с кондиционными нокаутами в генах, кодирующих белки CAT-1, PON2, F1H-1 и PHD-2, принимающих участие в различных путях метаболизма в эндотелии сосудов, вовлеченными в клеточные реакции на стресс и ассоциированными с сердечно-сосудистыми заболеваниями у человека. Кроме исследования последствий отдельных мутаций будут созданы модели мышей, содержащие комбинации двух или трех мутаций, что, возможно, позволит получить новые данные, проясняющие этапы развития атеросклероза. Прямой целью проекта станет нокаут данных генов в эндотелиальных клетках сосудов, но ввиду универсальности предлагаемой стратегии, созданные модели также могут быть использованы для исследования роли антиоксидантных препаратов на фоне оксидативного стресса избирательно в любых тканях (нервной, мышечной, в отдельных органах и системно). Коллектив имеет опыт успешного применения методов генного редактирования в мышцах. К настоящему времени в группе А.В.Дейкина созданы несколько мышечных моделей заболеваний человека (FUS -протеинопатия, персонализированная модель дистрофии Дюшенна (Egorova et al., 2019), синдром Леша-Найхена (будет использована в мероприятии **M2.2.3**). Создаваемые в рамках данного проекта мышечные модели будут использованы в работах по исследованию механизмов возникновения атеросклероза и способов его лечения. Эти мероприятия будут реализованы совместно с РНИМУ им. Пирогова и Научно-образовательным центром, созданным на базе Белгородского государственного университета, которые имеют исследовательскую базу для проведения доклинических испытаний на мышцах.

В последние годы в ряде компаний начинают разрабатываться технологии генной терапии наследственных заболеваний крови. Для валидации разработанных подходов наиболее удобными являются модели заболеваний на гуманизированных животных, прежде всего мышцах. В мероприятии **M2.1.3** разрабатывается подход по получению гуманизированных мышей по генам, кодирующим белки крови антитромбин и C1-ингибитор. В случае получения позитивных результатов аналогичные гуманизированные мыши могут быть созданы по другим генам, кодирующим факторы крови. Полученные модели позволят воспроизводить в модельных мышцах любые мутации, найденные у человека. Таким образом, при выполнении проекта будет не просто определена возможность гуманизации мышей по генам, кодирующим белки крови, но и появится возможность получить в мышцах модели генетических заболеваний человека, что позволит разрабатывать на мышечных моделях генотерапевтические подходы лечения генных заболеваний крови.

Рекомбинантное производство терапевтических белков для лечения заболеваний человека в

настоящее время является крупнейшим источником инноваций в фармацевтической промышленности. Использование трансгенных животных, как платформы производства белков человека, является привлекательной перспективой вследствие низких производственных затрат, связанных с высокой продуктивностью и качеством рекомбинантных белков. К настоящему времени одобрено медицинское применение белков антитромбина и С1 ингибитора человека, выделенных из молока трансгенных животных. Однако основными проблемами использования животных как продуцентов белков на протяжении предшествующих лет были случайная интеграция конструкции в геном животного и присутствие гена животного, кодирующего гомологичный белок, от которого трудно полностью отделить белок человека. Совершенствуемые коллективами Центра (Задача 2.3) системы редактирования генома значительно увеличивают привлекательность животных как продуцентов терапевтических белков человека. Поэтому в Центре будет проведена работа по получению гуманизированных кроликов-продуцентов белков антитромбина и С1 ингибитора человека в молоке. При выполнении проекта будет отработана технология получения трансгенных кроликов. Коллектив имеет опыт получения трансгенных мышей и коз-продуцентов рекомбинантных белков человека (лактоферрин, проурокиназа, лизоцим, HSP70) и проведения исследований по поиску наиболее эффективных регуляторных элементов при трансгенезе (Deukin et al., 2019, in press) в молоке. Поэтому существует достаточно высокий потенциал реализуемости данного проекта. Создание гуманизированных кроликов - продуцентов рекомбинантных белков человека для производства орфанных лекарственных препаратов соответствует Приоритету научно-технического развития России – переход к персонализированной медицине (поскольку внедрение экономичной технологии производства повысит доступность индивидуализированных лекарственных средств), а также ожидаемым результатам Программы по развитию генетических технологий в части создания лекарственных препаратов для терапии заболеваний с описанной генетической этиологией.

Исследования последних лет показывают, что нейрогенез регулируется разнообразными физиологическими и патологическими стимулами, которые, как полагают, могут действовать на различные этапы нейрогенного каскада через специфические нервные сети или локальные взаимодействия между клетками «ниши». Идентификация таких нервных сетей и локальных клеточных взаимодействий имеет огромное значение как для развития фундаментальной нейробиологии, так и для разработки методов эффективной профилактики и терапии нарушений когнитивной сферы. В мероприятии **M2.1.4** предлагается использовать термогенетическую стимуляцию как универсальный индуктор кальциевой сигнализации в клетках нейральной и глиальной природы для изучения того, как активация различных нервных входов в зубчатую извилину влияют на различные этапы нейрогенеза. В рамках мероприятия планируется применить последние достижения членов коллектива в термогенетике и в анализе различных этапов нейрогенеза с использованием нового метода, который позволяет проследить историю деления стволовых и транзиторных амплифицирующихся клеток и судьбу их потомков с помощью трех модифицированных нуклеотидов. Объединение этих технологий в единый методический комплекс позволит провести уникальное исследование природы сигналов, стимулирующих нейрогенез во взрослом мозге. В результате выполнения проекта ожидается определение значения электрической активности нервных проекций и локальных нервных сетей, а также функции глиальных компонентов «ниши» в поддержании покоя и деления стволовых клеток, регуляции пролиферации и выживания транзиторных амплифицирующихся клеток, дифференцировке, созревании и интеграции новорожденных нейронов. Полученные результаты будут иметь важное значение для выяснения роли нейрогенеза в функционировании нормального и патологического мозга, а также для разработки новых стратегий коррекции когнитивного дефицита, вызванного нарушением нормальной продукции и интеграции новых нейронов. Заделом коллектива по проекту является, с одной стороны, разработанная технология термогенетической стимуляции нейронов и не-нейрональных клеток (Ermakova et al., 2017), и, с другой стороны, технология оценки нейрогенеза во взрослом мозге, позволяющая не только подсчитывать количество нейрональных стволовых клеток и прогениторов, но и оценивать число делений, через которые прошла та или иная клеточная популяция (Podgorny et al., 2018b, 2018a). Помимо задела,

реализуемость мероприятия обеспечивается высоким научным и технологическим уровнем коллектива, который подтверждается публикациями в высокорейтинговых журналах первого квартала, таких как Nature Communications, Cell Metabolism, Aging и др., посвященным термогенетике и нейрогенезу, а также прорывной тематикой планируемого мероприятия, которая согласуется с мировыми трендами развития биомедицины, а, во многих случаях, определяет их, как в случае термогенетики и методик изучения нейрогенеза, являющихся авторскими разработками участников коллектива.

Задачи моделирования заболеваний, сопряженные с поиском персонализированного подхода для терапии, ставятся в мероприятии **M2.2.3**, в котором разрабатываются методы для соматической коррекции патологических генетических вариантов, связанных с развитием наследственных заболеваний у детей. Идентификация генетических причин редких неописанных генетических заболеваний в российских семьях и разработка клеточных технологий, основанных на методах редактирования генома соматических клеток и направленных на персонализированную терапию наследственных заболеваний, являются основными целями данного мероприятия. В задачи мероприятия входит обнаружение новых генов-кандидатов и генетических вариантов, связанных с развитием наследственных заболеваний у детей, на основе секвенирования экзонов и геномов, глубокого фенотипирования, применения оригинальных биоинформатических технологий и методов функциональной геномики. В дальнейшем планируется разработка и апробация на животных моделях клеточных технологий, основанных на CRISPR/CAS9 редактировании генома аутологичных соматических клеток, с целью создания фундаментальных основ персонализированной терапии у больных с наследственными заболеваниями обмена веществ (мукополисахаридозами I и II типов, синдромом Леша-Найхана и лейкодистрофиями), первичной легочной гипертензией, синдромом Ретта. Научные школы НИКИ педиатрии имени академика Ю.Е.Вельтищева (подразделение РНИМУ им. Н.И. Пирогова) имеют уникальный многолетний опыт исследований патогенетических механизмов наследственных моногенных заболеваний у детей. Благодаря полному охвату большого числа российских больных сложились оптимальные условия для экспертного клинико-генетического анализа крупных когорт пациентов с наследственными болезнями сердца, почек, легких, нервной системы, обмена веществ и с нарушениями интеллекта (не менее 20 видов патологий, охватывающих не менее 300000 детей РФ до 18 лет). Лаборатория биоинформатики и клинической геномики имеет большой опыт анализа данных секвенирования пациентов с редкими наследственными заболеваниями (более 3000 кейсов), обнаружения новых генов и ранее неописанных генетических вариантов, а также функционального анализа влияния выявленных генетических вариантов на сплайсинг. Работа будет проводиться в тесном сотрудничестве с ИБГ РАН (животные модели наследственных патологий), ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России (модели на основе ИПСК), ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» (редактирование генома ИПСК и животных). Все перечисленное позволяет реализовать задачи, поставленные в настоящем исследовании.

Наследственные нейродегенеративные заболевания представляют собой одну из наиболее актуальных проблем современной неврологии и нейробиологии. Существуют как проблемы моделирования таких заболеваний, так и еще большие проблемы их терапии. В рамках мероприятия **M2.2.4** будет проведено создание изогенных клеточных систем на основе ИПСК для скрининга новых терапевтических молекул против нейродегенеративных полиглутаминовых заболеваний. В проекте предусматривается использование этих изогенных клеточных тест-систем для изучения молекулярных основ развития и экспериментальных подходов к лечению полиглутаминовых заболеваний – болезни Гентингтона (экспансия CAG-повторов в гене HTT) и ряда форм аутосомно-доминантных спиноцеребеллярных атаксий (гены ATXN1, ATXN2, ATXN3, TBP). В результате проведенных исследований может быть разработан фундаментальный подход для коррекции не только полиглутаминовых заболеваний, но и других генетических патологий, связанных с увеличением тринуклеотидных повторов. Коллектив обладает всеми необходимыми компетенциями и оборудованием, связанными не только с возможностью использовать CRISPR/CAS9 редактирование и синтезировать необходимые олигонуклеотиды, но и с

получением в необходимом количестве нейрональных производных, в том числе, в виде органоидов, из плюрипотентных клеток с созданием условий для поддержания их дифференцированного состояния. Коллектив также обладает необходимыми знаниями в создании животных моделей и планированием экспериментов на лабораторных животных. Ранее, при совместной работе с Научным центром неврологии, с использованием технологии генетического репрограммирования создана обширная коллекция линий ИПСК, в том числе от пациентов с болезнью Гентингтона с избыточным количеством CAG-повторов (40-47), с ювенильной формой БГ (76 повторов) в гене HTT, а также от пациентов со SCA-1 и SCA-17 и проведена их характеристика. Это сотрудничество будет продолжено. Разработаны высокоэффективные протоколы дифференцировки плюрипотентных стволовых клеток человека в срединные шипиковые нейроны стриатума, в дофаминергические нейроны, глиальные клетки (Guryanov et al., 2019, Shutova et al., 2016, Chestkov et al., 2014, Philonenko et al., 2017, Nenasheva et al., 2018, Nekrasov et al., 2016). Ранее коллективом было показано, что нейроны, дифференцированные из ИПСК, несущие избыточное количество CAG-повторов в гене HTT, имеют повышенную лизосомальную активность, повышенную частоту инвагинаций ядерной оболочки по сравнению с контрольными нейронами, а также повышенный депо-управляемый вход кальция и повышенную экспрессию ряда генов, связанных с обменом кальция (Nekrasov et al., 2016, Vigont et al., 2018). Таким образом, методы гистологии, цитологии, иммуногистохимии, сортинга, электрофизиологии, полногеномные методы исследования хорошо знакомы участникам проекта. Коллектив заявителей разработал и синтезировал ASO с различными модификациями нуклеотидов, в том числе флуоресцентные, для визуализации их при введении в культуру клеток. Часть этих молекул показала высокую эффективность ингибирования синтеза мутантного HTT на культурах нейронов, дифференцированных из ИПСК. Будет осуществлена генокоррекция избыточных CAG повторов с помощью системы геномного редактирования CRISP/Cas9. В частности, с помощью технологии CRISP/Cas9 будет получено несколько трансгенных линий HTT и SCA-1, SCA-17, в которых будут отредактированы до нормального числа CAG повторы, или внесено их избыточное количество, с помощью обработки модельных клеток антисмысловыми олигонуклеотидами (ASO) (предположительно, более специфичными к мутантному аллелю), с последующим анализом протеома будет проведен поиск прогностических биомаркеров полиглутаминовых заболеваний и отобраны терапевтические лидерные ASO. В дальнейшем, для валидации найденных эффективных молекул, в работе будут использованы мыши, трансгенные по мутантному аллелю гена HTT человека (мыши YAC128).

Цель исследования проекта **M2.2.5** – разработка клеточной модели невосприимчивости к инфекции ВИЧ-1 на основе генетически-кодируемых пептидных ингибиторов. Основная задача состоит в разработке нового CRISPR-опосредованного подхода для эрадикации ВИЧ-1 и создания устойчивости к широкому спектру генетических вариантов ВИЧ-1. Планируется изучить механизмы ингибирующего действия пептидов из gp41 ВИЧ-1 при экспрессии их на плазматической мембране в разных доменах. Дальнейшие исследования предполагают отбор наиболее эффективных пептидных конструкций.

Преимуществом этого подхода будет использование технологии нокина на базе метода SORTS, позволяющую инактивировать провирус и защищать клетки от заражения ВИЧ-1 и оценить *in vitro* и *in vivo* на мышах эффективность разработанной технологии. Коллектив-исполнитель разработал самые короткие на сегодняшний день GPI-белки, позволяющие эффективно доставлять эпитопные таги Flag и HA на поверхность клетки, и самую короткую последовательность, терминирующую транскрипцию. Это позволило в 5 раз повысить эффективность интеграции селекционного маркера в сравнении с традиционными генами-репортерами и легло в основу нового метода SORTS. Заявленный проект представляет дальнейшее развитие метода SORTS в направлении эрадикации ВИЧ и создания генетически-кодируемой невосприимчивости клеток к ВИЧ-инфицированию – крайне важным и современным направлением борьбы с данной инфекцией. Лаборатория является одной из ведущей в мире по изучению межклеточной трансмиссии ретровирусов человека, в ней были впервые созданы и

усовершенствованы специальные репортеры для измерения межклеточной трансмиссии ВИЧ-1 и HTLV-1. Полученные предварительные результаты по тестированию пептидов свидетельствуют об очень высокой их активности на поверхности клетки в составе липидных рафт. В лаборатории есть возможность полноценно оценить эффективность пептидов не только классическими методами, но и в тестах межклеточной репликации с различными вариантами ВИЧ. С учетом большого опыта работы с геномными нуклеазами (ZFN с 2010 г., CRISPR/Cas9 с 2013 г.) все это гарантирует высокую реализуемость поставленных задач.

В лаборатории имеются все необходимые конструкции и системы для количественной оценки репликации ретровирусов человека ВИЧ-1 и HTLV-1, некоторые из них являются оригинальной разработкой лаборатории (Mazurov et al., 2010, Shunaeva et al., 2015) Работы по CRISPR/Cas9 ведутся в лаборатории с 2013 года и имеются существенные наработки, публикации (напр. Zotova et al., 2019). Все это гарантирует выполнимость поставленных задач.

Диабет 1-го типа является острой проблемой мирового здравоохранения. В мире обсуждаются и разрабатываются различные подходы, связанные с восполнением недостатка выработки инсулина бета-клетками поджелудочной железы. Одним из подходов к лечению диабета могут стать трансплантации аутологичных инсулин-продуцирующих клеток пациентам. В рамках мероприятия **M2.2.6** предлагается инновационный подход к разработке технологии репрограммирования аутологичных фибробластов кожи для лечения диабета 1-го типа. Будет использована система редактирования эпигенома на основе эффекторного комплекса CRISPR/dCas9-SunTag-VP64, которая позволяет мультиплексно управлять экспрессией большого числа транскрипционных факторов. Использование этого подхода позволяет быстро и относительно дешево проверить большие пулы транскрипционных факторов и их сигнальных путей. В сочетании с технологией “single-cell transcriptomes” данная система позволит найти необходимые комбинации для репрограммирования фибробластов кожи человека в инсулин-продуцирующие бета-клетки поджелудочной железы. Будут разработаны и запатентованы методы получения соответствующих биомедицинских клеточных продуктов для лечения диабета 1-го типа. Данные БМКП будут производиться в виде инсулин-продуцирующих органоидов в гелевой массе внутри полупроницаемой мембранной оболочки. Коллективом накоплен опыт работы с разными типами стволовых и прогениторных клеток человека в т.ч. с фибробластами кожи, прогениторными клетками слюнной и поджелудочной железы, плюрипотентными стволовыми клетками (напр. Gnedeva et al., 2015, Dashinimaev et al., 2017). Освоены и успешно применяются все предполагаемые методы исследований - клонирование гидовых РНК системы CRISPR/Cas9, упаковка лентивирусных конструкторов, анализ уровня экспрессии генов, измерения значений MOI при лентивирусных трансфекциях методом цифровой капельной ПЦР. Создан необходимый практический задел по данному предлагаемому проекту.

Главным фактором, сдерживающим улучшение результатов лечения онкологических больных, является ограниченность длительности эффекта лекарственной терапии. В процессе лечения наблюдается быстрая эволюция опухолей, которая сопровождается адаптацией злокачественных клеток к лечебному воздействию. Мероприятие **M2.2.7** посвящено приложению геномных и постгеномных технологий для преодоления проблем устойчивости злокачественных опухолей к лекарственной терапии. Целью проекта является разработка новых подходов к преодолению устойчивости новообразований к лечебным воздействиям. В задачи проекта входят создание коллекции парных образцов опухолей яичника, молочной железы и толстой кишки, полученных до и после химиотерапии, и крупномасштабное «омиксное» профилирование биологического материала. Следующей задачей станет разработка неинвазивных диагностических панелей для мониторинга эффективности лечения и детекции резистентных опухолевых клонов. Планируется исследовать вклад химиотерапии в межклеточную коммуникацию, способствующую возникновению устойчивой к терапии популяции опухолевых клеток и изучить противоопухолевый эффект ингибиторов межклеточной коммуникации.

В данном проекте предусматривается формирование оригинальной биологической коллекции парных образцов опухолей, полученных до и после неoadьювантной химиотерапии (ХТ): опухоли

яичника (не менее 100 случаев); карциномы толстой (прямой) кишки (не менее 100 случаев); карциномы молочной железы (не менее 100 случаев). В распоряжении исполнителей уже имеется часть коллекции биологического материала, которая включает 40 парных образцов асцитных жидкостей и опухолевых клеток от пациенток с аденокарциномой яичника до лечения и от тех же пациенток после курсов ХТ (Shender et al., 2014; Anufrieva et al., 2018). Для анализа молекулярных механизмов лекарственной резистентности будет использован полный арсенал современных «омиксных» технологий. Анализ мутационных профилей и нарушений копийности генетического материала будет произведен с помощью полноэкзомного секвенирования опухолевого материала в парных образцах. Изменение экспрессии генов и нарушения в альтернативном сплайсинге будут оценены с помощью массивного параллельного секвенирования РНК парных образцов опухолей на платформе Illumina. Также будут задействованы технологии анализа единичных клеток. Для анализа изменений в глобальном метилировании в парных образцах опухолей будет использовано полногеномное бисульфитное секвенирование на платформе Illumina. Анализ протеомных профилей парных образцов опухолей будет проведен с помощью тандемной масс-спектрометрии, совмещенной с высокоэффективной жидкостной хроматографией.

Для проведения омиксных исследований на современном уровне на базе ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА планируется создание центра коллективного пользования «Геномика. Протеомика. Метаболомика». Квалификация коллектива в области омиксных технологий, клеточной биологии, молекулярной биологии и биоинформатики подтверждается публикациями в высокорейтинговых зарубежных рецензируемых журналах (Shender et al., 2014; Anufrieva et al., 2018; Pavlyukov et al., 2018; Ziganshin et al., 2016; Shender et al., 2018; Kotlobay et al., 2018; Fesenko et al., 2017; Babalyan et al., 2018; Sultanov et al., 2016; Lomakin et al., 2017; Bespyatykh et al., 2018). Мероприятие будет осуществляться в тесном взаимодействии с двумя крупнейшими медицинскими центрами: ФГБУ НМИЦ Онкологии им. Петрова (Санкт-Петербург) и Институтом онкогинекологии и маммологии ФГБУ НМИЦ АГП ИМ. В.И. Кулакова (Москва).

Одним из серьезных препятствий на пути к созданию новых фармакологических субстанций является проблема их биодоступности. Мероприятие **M2.2.8** в качестве основной цели ставит разработку синтетических штаммов-пробиотиков с направленными изменениями генома для терапии возрастных заболеваний. Главным объектом исследования будет рапамицин – макролид, наиболее эффективный из известных фармакологических препаратов, способствующих увеличению продолжительности жизни млекопитающих. Основным механизмом его действия связан с ингибированием mTOR сигнального пути клеток. Реконструкция биосинтеза рапамицина с помощью генетических технологий в бактериях является перспективной задачей, позволяющей создать синтетический пробиотик. Исполнители имеют большой опыт в разработке штаммов-продуцентов: ранее был создан продуцент AICAR природного предшественника пуриновых нуклеотидов (патент RU 2542387). AICAR обладает широким спектром терапевтического действия и проходит стадии клинических испытаний как антиопухолевый препарат. Ранее были установлены его геропротективные свойства (патент RU 2639500). Предварительные данные указывают на то, что использование штамма-продуцента как синтетического пробиотика на модели нематод *Caenorhabditis elegans* дает больший геропротективный эффект по сравнению с использованием очищенного препарата. Ранее исполнителями мероприятия было показано, что оксид азота, продуцируемый бактериями-комменсалами, проникает в ткани нематод и инициирует сигнальный каскад, приводя к специфическому ответу в транскрипции. Это, в свою очередь, влечет повышение устойчивости к термострессу и увеличению продолжительности жизни. Таким образом, метаболическая активность микробиоты оказывает существенно большее влияние на продолжительность жизни организма хозяина, чем предполагалось ранее. В лаборатории давно и успешно применяется весь арсенал геноинженерных методов для геномного редактирования, в т.ч. новейшие подходы с использованием CRIPR/Cas системы (прецизионное введение мутаций, инактивация генов, изменение регуляции экспрессии генов, изменение метаболических путей, создание бактериальных штаммов с заданными свойствами, и т.д.).

Ожидается разработка системы генетического редактирования, которая позволит наиболее

быстро и высокоэффективно осуществлять направленное введение в геном бактерий новых генов. Будут получены необходимые геноинженерные конструкции. В бактериях будет реконструирован биосинтез рапамицина и получен первый штамм-пробиотик. В последующие годы будет проведена его оптимизация, направленная на увеличение выхода целевого продукта. Проверка геропротективных свойств при использовании полученного штамма в качестве синтетического пробиотика будет проведена на нематодах. Таким образом, будет разработана технология реконструкции новых метаболических путей в бактериальных клетках и получен новый синтетический штамм-пробиотик, что позволит осуществлять коррекцию патологических состояний. Работы, представляющие научный задел исполнителей, опубликованы в последние 5 лет в журналах Cell, Science, PNAS.

Одним из важнейших направлений деятельности Центра станет задача по разработке новых геномных редакторов и эффективных систем доставки в клетки (задача 2.3.). В рамках этой задачи одним из мероприятий (**M2.3.1**) будет разработка новых инструментов геномного редактирования в клетках эукариот. Основной целью исследования станет разработка технологий геномного редактирования, аналогов широко распространенной технологии Cas9 из *Streptococcus pyogenes*, основанных на родственных Cas9 эффекторах из других организмов и на неродственных белках-эффекторах CRISPR-Cas систем других типов. В сотрудничестве с Евгением Куниным из Национального Института Здоровья в США коллективом-исполнителем были разработаны уникальные биоинформатические алгоритмы поиска новых CRISPR-Cas систем, относящихся к классу 2, т.е., имеющих только один эффекторный белок (Shmakov et al., 2015). Реализация этих алгоритмов позволила обнаружить три новых типа CRISPR-Cas-систем класса 2, а также многочисленные варианты этих систем, включая сотни систем второго типа с дальними гомологами Cas9 *S. pyogenes* и *Staphylococcus aureus*, другого белка, часто используемого на практике (Abudayyeh et al., 2016). Действие отдельных представителей систем двух новых предсказанных типов было подтверждено экспериментально исполнителями проекта в сотрудничестве с лабораторией Фенга Жанга из Массачусетского Технологического Института. Для систем предсказанного типа V (редакторы Cpf1, Cas12 и их варианты) была показана возможность использования для редактирования геномов клеток эукариот. Системы типа VI оказались уникальными РНК-зависимыми РНКазами и их исследования позволили разработать новый метод быстрого выявления молекул РНК в полевых условиях. В ходе выполнения работ по данному направлению будет продолжена систематическая работа по предсказанию принципиально новых CRISPR-Cas систем класса 2 и нетривиальных вариантов известных систем, проверке функциональности предсказанных CRISPR-Cas систем в бактериальных системах гетерологичной экспрессии и характеристике их РНК-компонентов. Существующий задел в виде биоинформатических алгоритмов предсказания, баз данных и разработанных эффективных протоколов экспериментальной проверки их функциональной активности в клетках прокариот и эукариот, а также полученные ранее результаты по системам новых типов позволяют быть уверенными в успешном развитии работ. Коллектив - исполнитель является одним из мировых лидеров в области изучения бактериального генома.

Отдельное направление работ в рамках мероприятий Программы – направленный поиск редакторов, обладающих функциональными характеристиками, подходящими для специфических задач лабораторий Центра.

Проблема доставки компонентов редактирования генома в клетки *in vitro* и *in vivo* является актуальнейшим направлением. Также требует решения проблема так называемых «off-target» эффектов, то есть, разрезания нецелевой последовательности ДНК в геноме. Мероприятие **M2.3.2** предполагает разработку усовершенствованных подходов генного редактирования и доставки в модельных системах *in vivo*. В рамках проекта предлагается провести работу по тестированию новых редакторов и подходов редактирования в линиях дрозофил, которые по принципам организации и регуляторных процессов в геноме близки млекопитающим. В настоящем проекте будет проведено систематическое сравнение эффективных новых редакторов (т.е. CRISPR-Cas эффекторных комплексов), найденных коллективами Центра, в модели дрозофилы. Также будут

проведены модификации лучших редакторов с целью оптимизации соотношения «on-target» и «off-target»-эффектов. Параллельно будут разработаны подходы для эффективной сборки *in vitro* комплекса новых редакторов с гидовой РНК и гомологичной ДНК-матрицей. Предполагается, что инъекция такого предсобранного комплекса позволит не только увеличить эффективность гомологичной рекомбинации, но и минимизировать «off-target» эффекты. Последняя часть проекта будет посвящена разработке подходов адресной доставки компонентов системы генного редактирования в клетки определенного типа. Коллектив имеет большой опыт работы с применением CRISPR/Cas-систем редактирования в линиях дрозофилы (Zolotarev et al., 2017, Zolotarev et al., 2019). Разработаны удобные схемы тестирования эффективности и специфичности функционирования редакторов в модельных локусах дрозофилы, а также коллектив имеет обширный опыт изучения белковых комплексов различной активности и структурно-функционального описания отдельных доменов (Zolotarev et al., 2016, Maksimenko et al., 2015), что позволит эффективно проводить все запланированные в проекте работы. Работа будет проводиться в тесном сотрудничестве с исполнителями мероприятий **M2.3.1**, **M2.3.3**, **M2.3.4**.

Редактирование протяженных участков генома – серьезная технологическая проблема. Целью проекта **M2.3.3** является разработка метода гомологичного редактирования геномов, основанного на подавлении негомологичной рекомбинации с целью встраивания в геномы протяженных фрагментов. Основной инновационной частью проекта является создание химерных белков, содержащих ДНК-экзонуклеазы, соединенные аминокислотным линкером с белками, связывающими одноцепочечную ДНК. На клеточных линиях будет протестирована эффективность встраивания протяженных участков ДНК с помощью системы CRISPR/Cas9 в присутствии полученных химерных белков. В результате будут разработаны и запатентованы модификации данного подхода, позволяющие увеличить эффективность встраивания протяженных фрагментов ДНК в геномы. У исполнителей проекта имеются публикации в области молекулярной биологии и генетики в ведущих научных журналах, таких как PNAS, Cell, Molecular Cell и Nucleic Acids Research. Таким образом, участники проекта являются квалифицированными специалистами и имеют большой опыт работы с культурами клеток, а также созданием и тестированием генно-инженерных конструкций. Реализуемость проекта не вызывает сомнений.

Мероприятие **M2.3.4** также направлено на совершенствование технологии редактирования генома и ставит целью создание системы редактирования генома CRISPR-Cas9 с повышенной эффективностью гомологичной рекомбинации. Гарантией реализуемости мероприятия является признанная на международном уровне репутация коллектива в качестве одного из сильнейших в области синтетической биологии, биоинженерии и биосенсорики, которая подтверждается публикациями в высокорейтинговых журналах первого квартиля, таких как Nature, Nature Methods, Nature Chemical Biology, Nature Communications, Cell Metabolism, Nano Letters и др. (напр. Belousov et al., 2006; Ermakova et al., 2017; Mishina et al., 2015; Murphy et al., 2011; Schwarzländer et al., 2014), а также международными наградами. Лаборатория успешно работает в таких направлениях, как оптогенетика и термогенетика, биосенсорика, метаболическая инженерия, редокс-биология, геномика, и специализируется на создании новых методов научных исследований.

Научный коллектив лаборатории технологий молекулярной диагностики ИМБ РАН (руководитель – Д.А. Грядун), реализующий мероприятие «CRISPR-биосенсоры для многопараметрического анализа молекулярных маркеров социально значимых заболеваний» (Мероприятие **M.2.4.1**), обладает значительным опытом разработки диагностических наборов на основе гидрогелевых биочипов и внедрения результатов собственных исследований, подтвержденный 13 регистрационными удостоверениями Росздравнадзора. Биочипы для анализа лекарственной устойчивости возбудителя туберкулеза, созданные научным коллективом, сегодня успешно применяются более чем в 30 учреждениях противотуберкулезной службы России и стран СНГ, 8 бактериологических лабораториях ФСИН, де-факто являясь стандартом лабораторной диагностики туберкулеза, позволяя выбирать и корректировать режимы терапии, дифференцированно назначать различные дозы химиопрепаратов, переводить пациентов на

лечение новейшими препаратами, что особенно важно при существующем чрезвычайно ограниченном спектре противотуберкулезных лекарственных средств. Фундаментальным аспектом мероприятия станет продолжение работ по поиску и установлению молекулярных механизмов формирования лекарственной устойчивости микроорганизмов, успешно решаемых коллективом исполнителей в последние годы (Zimenkov et al., 2017; Shaskolskiy et al., 2018; Jou et al., 2019; Kubanov et al., 2019).

Создание CRISPR-биосенсоров будет опираться на подбор Cas-нуклеаз и оптимизацию условий иммобилизации ферментов в гидрогеле совместно с направляющими и детектирующими молекулами РНК. Эта задача будет выполняться в тесном сотрудничестве с коллективом Института биологии гена Российской академии наук (ИБГ РАН) под руководством К.В. Северинова, являющегося одним из ведущих мировых ученых по созданию технологий редактирования генов, основанных на применении CRISPR-ассоциированных белков (далее Cas).

Коллективом К.В. Северинова в мероприятии «Разработка программного комплекса интерпретируемой оценки целевой и нецелевой активности эффекторного комплекса CRISPR-Cas при помощи глубоких нейронных сетей» планируется разработка и вывод на рынок нового комплекса программ для оценки направляющих РНК для геномного редактирования при помощи CRISPR/Cas с возможностью использования модифицированных Cas-белков (Мероприятие М.2.4.2). Разрабатываемый комплекс программ будет основан на методах глубокого обучения с возможностью интерпретации полученных предсказаний и обучения на малых выборках. Результаты данного проекта будут использованы, в том числе, для подбора оптимальных ферментов-нуклеаз и оптимизации структур направляющих и детектирующих молекул с целью применения в CRISPR-биосенсорах.

Еще одним мероприятием, заявленным в рамках задачи, является «Разработка технологии восстановления CRISPR касет у эпидемиологически значимых микроорганизмов» (Мероприятие М.2.4.3). В данном мероприятии коллективом К.В. Северинова предложено создание макета набора реагентов для диагностики *in vitro* и автоматизированного биоинформатического пайплайна для восстановления состава CRISPR касет у *Clostridium difficile*, пригодных для использования в клинической практике для рационального использования фаготерапии в отношении данного патогена, характеризующегося высоким уровнем лекарственной устойчивости. Коллективом будут продолжены исследования разнообразия бактериальных сообществ поверхностного снега Антарктиды (Lopatina et al., 2016) и динамики CRISPR касет у бактерий рода *Thermus* (Lopatina et al., 2019), что позволит не только восстанавливать состав спейсеров, но и порядок их расположения в CRISPR касете.

В свою очередь, коллективом лаборатории технологий молекулярной диагностики ИМБ РАН успешно решена аналогичная задача в отношении идентификации аналогов CRISPR касет у возбудителя туберкулеза – микобактерий туберкулезного комплекса (МТВ) (Bespyatykh et al., 2014). Созданный метод внутривидового генотипирования изолятов возбудителя туберкулеза и набор «СПОЛИГО-БИОЧИП» (<http://biochip-imb.ru/index.php/test-systems/tuberculosis-biochips/26-spoligo-biochip>), позволяет составить генетический профиль каждого изолята МТВ, относя его к определенному генотипу. Разработанный набор применяется сегодня в учреждениях противотуберкулезной службы РФ и стран СНГ для дифференциации МТВ от вакцинного штамма *Mycobacterium bovis BCG* в содержимом холодных абсцессов у детей с поствакцинальными осложнениями. Методические подходы, созданные коллективом ИМБ РАН, будут использованы при решении задачи молекулярного профилирования состава спейсеров CRISPR касет патогенов для получения информации об их чувствительности к бактериофагам.

Коллектив РНИМУ им. Н.И. Пирогова по руководством академика С.А. Лукьянова (<http://rsmu.ru/2149.html>), реализующий мероприятие «Создание набора реагентов для полноэкзомного обогащения библиотеки фрагментов ДНК перед высокопроизводительным секвенированием» (Мероприятие М.2.4.4), обладает необходимым опытом решения широкого ряда фундаментальных, прикладных, технологических и конструкторских задач. Коллективом

разработаны методы полногеномной и полнотранскриптомной вычитающей гибридизации, нормировки представленности молекул в сложной смеси фрагментов ДНК и ряд других технологий. Разрабатываемые технологии полноэкзомного секвенирования свяжут фундаментальные исследования коллективов Д.А. Грядунова и К.В. Северинова по поиску молекулярных детерминант резистентности и CRISPR касет патогенных микроорганизмов и обеспечат трансляцию результатов в важнейшие диагностические приложения, внедряемые в практику медицинских организаций.

1.5. Планы по сотрудничеству с научно-исследовательскими организациями Российской Федерации

Помимо тесного научно-технического сотрудничества в рамках создаваемого Центра, предполагается взаимодействие с другими ведущими научно-исследовательскими организациями Российской Федерации.

Научный коллектив ИМБ РАН, реализующий Мероприятие М1.1.1 *«Животные модели на основе генетически модифицированных и гуманизированных мышей для изучения механизмов патологического воспаления»* и Мероприятие М2.1.1 *«Предклинические модели и исследования активности прототипов новых лекарств в генетически модифицированных и гуманизированных мышцах»* продолжит сотрудничество по анализу генома мышей, а также сопоставление данных, полученных на мышинных моделях с иммунодефицитами у людей, с НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова Министерства здравоохранения РФ. На базе Центра доклинических испытаний ИФАВ РАН планируется редеривация, разведение и формирование экспериментальных групп трансгенных мышей. Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского – будет продолжено сотрудничество по поиску генетических мутаций, обеспечивающих устойчивость к сепсису, у мышей из уникальной коллекции мутантных линий, полученных в ходе ENU-мутагенеза.

Научный коллектив ИМБ РАН, реализующий Мероприятие М1.1.2 *«Вклад механизмов противовирусной защиты клеток и рецепторов иммунных контрольных точек в эффективность вирусного онколиза»* и Мероприятие М2.2.1 *«Создание модифицированных генетических систем на основе онколитических вирусов и иммунных клеток для повышения селективности и эффективности иммунотерапии»* предполагает выполнять работы в сотрудничестве с Институтом биоорганической химии РАН по получению иммортализованных иммунных клеток – натуральных киллеров и макрофагов (совместно с Е.И. Фроловой), с отделом вирусологии им. Ивановского Института микробиологии и иммунологии им. Гамалеи, по части создания рекомбинантных онколитических вирусов (совместно с проф. О.П. Жирновым). Будет продолжено многолетнее сотрудничество с Институтом нейрохирургии им. Академика Бурденко (директор – академик А.А. Потапов) в области изучения чувствительности клеток злокачественных глиом к онколитическим вирусам. В сотрудничестве с Онкологическим научным центром им. Блохина проводятся совместные исследования по созданию препаратов онколитических энтеровирусов, пригодных для проведения клинических испытаний (в рамках гранта, предоставленного Центром стратегического планирования (ЦСП) Минздрава РФ). Установлено сотрудничество с Институтом судебной психиатрии им. Сербского и Российским научно-исследовательским медицинским университетом им. Н.И. Пирогова (академик В.П. Чехонин) в области создания мышинных моделей для испытания онколитических вирусов. Имеются установленные связи с ГНЦ «Вектор», где ведется разработка онколитических вирусов на основе ослабленного вируса осповакцины (Г.В. Кочнева) и Новосибирским государственным университетом, в котором один из участников (П.М. Чумаков) был организатором лаборатории микробиологии и вирусологии. Для характеристики сигнальных путей модифицированных клеточных систем предполагается также сотрудничество с Институтом химической физики им. Семенова, в части панорамной протеомики, количественного определения экспрессии продуктов отдельных генов (М.В. Горшков и И.А. Тарасова). Со всеми перечисленными потенциальными партнерами у коллектива имеются совместные публикации.

Кроме этого, один из участников проекта (П.М. Чумаков) по совместительству является руководителем лаборатории в ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова, где участвует в разработке технологии производства препаратов онколитических вирусов.

Научный коллектив РНИМУ им. Н.И. Пирогова, реализующий Мероприятие М1.1.3 «Систематизация знаний о Т-клеточных рецепторах с определенной антиген-специфичностью, а также ассоциированных с определенным состоянием организма» и Мероприятие М2.2.2 «Платформа для идентификации мотивов последовательностей Т-клеточных рецепторов с известной специфичностью, а также ассоциированных с определенными заболеваниями» продолжит тесное сотрудничество с рядом организаций по широкому спектру направлений, каждое из которых вносит свой вклад в развитие настоящего проекта, в том числе с Институтом биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН - в рамках работы над клеточными системами для скрининга антигенной специфичности вариантов Т-клеточных рецепторов и системами скрининга выродженных библиотек вариантов Т-клеточных рецепторов, с Приволжским окружным медицинским центром - в развитие существующего взаимодействия по диабету 1 типа, с ФГБНУ НИИ Ревматологии им. В.А. Насоновой – по аутоиммунным спондилоартритопатиям, с НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева – по специфичности Т-клеточных рецепторов.

Научный коллектив ИМБ РАН, реализующий Мероприятие М1.2.3 «Исследование генетических основ заболеваний человека при помощи высокоточного геномного редактирования короткоживущих рыб» планирует сотрудничество с Институтом биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук (ИБ Коми НЦ УрО РАН), в коллаборации с которым уже опубликовано около 30 статей в ведущих зарубежных журналах. Сотрудничество с ИБ Коми НЦ УрО РАН в рамках данного проекта позволит анализировать возможность применения различных фармакологических веществ для предупреждения и лечения исследуемых заболеваний на модельных животных, оценивать потенциал их использования с целью увеличения продолжительности здоровой жизни человека, контролировать возможные побочные эффекты. В рамках проекта планируется также сотрудничество с МНИОИ им. П.А. Герцена – филиалом ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. МНИОИ им. П.А. Герцена и ИМБ РАН проводят совместные научные исследования различных онкологических заболеваний человека начиная с 2014 г. В рамках задач данного проекта МНИОИ им. П.А. Герцена будет поддерживать запланированные работы по созданию *in vivo* моделей для исследования онкологических заболеваний человека.

Научный коллектив ИБГ РАН, реализующий Мероприятие М2.1.2 «Генетическая модификация и гуманизация мышей для создания моделей сердечно-сосудистых патологий человека» и Мероприятие М2.1.3 «Исследование потенциала гуманизации мышей и кроликов по белкам крови и создание гуманизированных кроликов-продуцентов биологически активных антитромбина и С1-ингибитора человека в молоке» планирует выполнение работ совместно с Научно-образовательным центром, созданным на базе Белгородского государственного университета, имеющего базу для проведения доклинических испытаний на мышах и заинтересованного в создании, валидации и использовании в своих исследованиях мышей – моделей ССЗ. Заинтересованным партнером проекта является ООО «Фармапарк», который проявляет интерес к моделям сердечно-сосудистых патологий и мутаций белков крови, модели атеросклероза на фоне эндотелиальной дисфункции.

Научный коллектив РНИМУ им. Н.И. Пирогова, реализующий Мероприятие М2.1.4 «Термогенетические технологии управления активностью клеток мозга для стимуляции нейрогенеза» планирует сотрудничество с ИВНДФ РАН в области применения метода термогенетики для исследований функционирования клеток мозга.

Научный коллектив РНИМУ им. Н.И. Пирогова, реализующий Мероприятие 2.2.3. «Подходы к соматической коррекции патологических генетических вариантов, связанных с развитием наследственных заболеваний у детей», планирует сотрудничество с Федеральным

государственным учреждением «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Научный коллектив ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России, выполняющий Мероприятие М2.2.4 «Разработка изогенных клеточных систем для скрининга новых терапевтических молекул против нейродегенеративных полиглутаминовых заболеваний» планирует коллаборацию с Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Научный центр неврологии» (ФГБНУ НЦН), который уже несколько лет проводит совместные фундаментальные исследования молекулярных механизмов нейродегенеративных патологий, в том числе, полиглутаминовых, с лабораторией клеточной биологии ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России. Другим партнером станет ООО НПП «ПанЭко», выразившее свой интерес в разработке новых компонентных составов сред для культивирования стволовых клеток.

Научный коллектив ИБГ РАН, реализующий Мероприятие М2.2.5 «Разработка клеточной модели невосприимчивости к инфекции ВИЧ-1 на основе генетически-кодированных пептидных ингибиторов» планирует сотрудничество с научными организациями Роспотребнадзора России и с ФГБУ «НИЦ эпидемиологии и микробиологии имени акад Н.Ф.Гамалеи» МЗ РФ.

Научный коллектив РНИМУ им. Н.И. Пирогова, реализующий Мероприятие М2.2.6 «Разработка технологии репрограммирования аутологичных фибробластов кожи для лечения диабета 1-го типа» планирует сотрудничество в области разработки биомедицинских клеточных продуктов и проведения доклинических исследований с Институтом биологии развития РАН.

Научный коллектив ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России, выполняющий Мероприятие М 2.2.7 «Геномные и постгеномные технологии для преодоления проблем устойчивости злокачественных опухолей к лекарственной терапии» планирует создание масштабной уникальной коллекции парных образцов плазмы крови и опухолей молочной железы, яичника и толстой кишки до и после химиотерапии и их всестороннюю характеристику в сотрудничестве с Национальным медицинским исследовательским центром онкологии имени Н.Н. Петрова (НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова). В рамках проекта планируется продолжение многолетнего сотрудничества с Национальным медицинским исследовательским центром акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова (ФГБУ НМИЦ АГП ИМ. В.И. Кулакова) по созданию коллекции парных образцов сывороток крови, асцитных жидкостей и опухолевого материала от одних и тех же пациенток с аденокарциномой яичника до лечения и после возникновения резистентности к использованному противоопухолевому препарату.

Научный коллектив ИМБ РАН, реализующий Мероприятие М2.3.3 «Новые подходы к подавлению негомологичной рекомбинации для встраивания в геномы протяженных фрагментов ДНК» будет осуществлять разработку усовершенствованного подхода геномного редактирования в сотрудничестве с лабораторией Грановского И.Э., Лаборатория энзимологии генетических процессов, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, лабораторией Графодатского А.С., Лаборатория цитогенетики животных, Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, группой транскрипционного анализа под руководством Колосова П.М., Лаборатория клеточной нейробиологии и обучения, Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, Москва.

Научный коллектив ИМБ РАН, реализующий мероприятие М2.4.1 «CRISPR-биосенсоры для многопараметрического анализа молекулярных маркеров социально значимых заболеваний», в рамках проекта по анализу лекарственно-устойчивых форм туберкулеза, продолжит активное многолетнее сотрудничество с Московским научно-практическим центром борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения г. Москвы. Разработка биосенсора для диагностики маркеров резистентности возбудителя гонококковой инфекции будет проводиться в сотрудничестве с Государственным научным центром дерматовенерологии и косметологии Минздрава России. Оба центра располагают лицензиями на работу с микроорганизмами III-IV групп патогенности, что позволит им эффективно решать задачи в отношении изучаемых микроорганизмов и обеспечивать необходимыми образцами нуклеиновых кислот научный коллектив ИМБ РАН.

Разработка биосенсора для диагностики возбудителей клещевых инфекций будет проводиться в сотрудничестве с Тюменским государственным университетом. Ранее было подписано Соглашение о намерениях стратегического партнерства между правительством Тюменской области, Тюменским государственным университетом и Институтом молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук. Соглашение предусматривает осуществление совместных научных исследований и разработок мирового уровня в рамках реализации Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы.

РНИМУ им. Н.И. Пирогова, реализующий мероприятие М2.4.4 «Создание набора реагентов для полноэкзомного обогащения библиотеки фрагментов ДНК перед высокопроизводительным секвенированием», продолжит тесное сотрудничество с Институтом биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Приволжским окружным медицинским центром, ФНКЦ Детской гематологии, Институтом иммунологии ФМБА России, Институтом ревматологии по широкому спектру направлений, каждое из которых вносит свой вклад в решение задач настоящего проекта.

1.6. Планы по сотрудничеству с зарубежными научно-исследовательскими организациями

В рамках реализации задач Центра предполагается плотное взаимодействие с зарубежными научно-исследовательскими организациями.

Научный коллектив ИМБ РАН, реализующий Мероприятие М1.1.1 «Животные модели на основе генетически модифицированных и гуманизированных мышей для изучения механизмов патологического воспаления» и Мероприятие М2.1.1 «Предклинические модели и исследования активности прототипов новых лекарств в генетически модифицированных и гуманизированных мышцах», будет осуществлять изучение фенотипа мышей с нарушениями лимфотоксинового сигнального каскада в клетках с экспериментальным аутоиммунным энцефаломиелитом (модель рассеянного склероза) совместно с Научным центром здоровья Техасского университета, Сан-Антонио, США (University of Texas Health Science Center at San Antonio, San Antonio, TX, USA). Изучение мышей с конститутивной и регулируемой сверхэкспрессией Nef-трангена (модель атеросклероза и когнитивных расстройств) будет выполняться совместно со Школой медицины и здравоохранения института Джорджа Вашингтона, Вашингтон, США. Department of Microbiology, Immunology & Tropical Medicine, School of Medicine and Health Sciences, The George Washington University, Washington, D.C., USA. В реализации работ примет участие Онкологический центр Фокс Чейз, Филадельфия, США (Cancer Prevention and Control Program, Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA, USA).

Научный коллектив ИМБ РАН, реализующий Мероприятие М1.1.2 «Вклад механизмов противовирусной защиты клеток и рецепторов иммунных контрольных точек в эффективность вирусного онколиза» и Мероприятие М2.2.1 «Создание модифицированных генетических систем на основе онколитических вирусов и иммунных клеток для повышения селективности и эффективности иммунотерапии» имеет тесные связи с рядом зарубежных научных учреждений и лабораторий. В США - с лабораторией профессора George R. Stark (Lerner Research Institute, Cleveland Clinic), который является пионером в области исследований сигнального пути Jak/STAT, участвующего в интерфероновом ответе. С профессором Anton Komar в Cleveland State University в области создания синтетических вирусных систем с оптимизацией кодонного состава под различные типы клеток. Многолетнее сотрудничество с Индией – Prof. Rajesh Singh, University of Baroda, Gujarat в области изучения систем индукции интерферона и роли сигнального пути RIG1-MAVS в контроле энергетического статуса митохондрий, что крайне важно для создания новых генетически модифицированных клеточных моделей. Установлено сотрудничество с Республикой Корея, с Prof. Joon Haeng Rhee, директором Центра Combinatorial Tumor Immunotherapy, National Research Laboratory for Microbial Pathogenesis, Clinical Vaccine R&D Center, Chonnam National University Medical School. Участник коллектива профессор П.М. Чумаков

является почетным профессором Тюбингенского университета и сотрудничает с Prof. Alfred Nordheim и Prof. Tassula Proikas-Cezanne в области исследования механизмов аутофагии и клеточного старения. Эти исследования важны для создания иммортализованных клеточных систем.

Научный коллектив РНИМУ им. Н.И. Пирогова, реализующий Мероприятие М1.1.3 «Систематизация знаний о Т-клеточных рецепторах с определенной антиген-специфичностью, а также ассоциированных с определенным состоянием организма» и Мероприятие М2.2.2 «Платформа для идентификации мотивов последовательностей Т-клеточных рецепторов с известной специфичностью, а также ассоциированных с определенными заболеваниями» в рамках наполнения биоинформационной базы данных Т-клеточных рецепторов с известной специфичностью, VDJdb (<https://vdjdb.cdr3.net/>), а также по линии разработки клеточных систем для скрининга антигенной специфичности вариантов и групп вариантов Т-клеточных рецепторов интереса продолжит активное сотрудничество со множеством зарубежных коллективов из Cardiff University, St. Jude Children's Research Hospital, University of Melbourne и других мировых научных центров.

Научный коллектив ИБГ РАН, реализующий Мероприятие М1.2.2 «Изучение механизмов сборки регуляторных белковых комплексов на хроматине и нарушений 3D генома в развитии генетических заболеваний с применением CRISPR/Cas-системы» планирует проводить работы по изучению регуляторных белковых комплексов, организующих архитектуру хромосом, в тесном сотрудничестве с лабораториями Майка Левайна и Пола Шедла, Принстонский Университет. Коллектив заявителей является членом Международного Нуклеомного Консорциума (INC), в рамках которого поддерживаются тесные взаимодействия при выполнении междисциплинарных исследований в области изучения организации ядра.

Научный коллектив ИМБ РАН, реализующий Мероприятие М1.2.3 «Исследование генетических основ заболеваний человека при помощи высокоточного геномного редактирования короткоживущих рыб» планирует тесное сотрудничество с Дарио Риккардо Валенцано - доктором наук, руководителем Группы эволюционной и экспериментальной биологии старения Института биологии старения Общества Макса Планка (Германия). Д.Р. Валенцано выразил письменное согласие оказывать методическую помощь в реализации задач исследования и ежегодно принимать несколько сотрудников проекта на стажировку.

Научный коллектив ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России, выполняющий Мероприятие М2.2.4 «Разработка изогенных клеточных систем для скрининга новых терапевтических молекул против нейродегенеративных полиглутаминовых заболеваний» планирует выполнение работ по анализу электрофизиологической активности нейронов и органоидов, полученных из ИПСК пациентов с полиглутаминовыми заболеваниями в коллаборации с профессором Gregory Wulczyn и институтом Institute of Cell Biology and Neurobiology / Charité - Universitätsmedizin Berlin, Германия

Научный коллектив ИБГ РАН, реализующий Мероприятие М2.2.5 «Разработка клеточной модели невосприимчивости к инфекции ВИЧ-1 на основе генетически-кодируемых пептидных ингибиторов», ведет многолетнее и плодотворное сотрудничество с Dr. Wei-Shau Hu, HIV Dynamics and Replication Program, National Cancer Institute at Frederick, Frederick, Maryland, USA.

Научный коллектив ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России, выполняющий Мероприятие М2.2.7 «Геномные и постгеномные технологии для преодоления проблем устойчивости злокачественных опухолей к лекарственной терапии» планирует сотрудничество с профессором И.Самохваловым, руководящим лабораторией в Университете Гуанчжоу (Китай).

Научный коллектив ИМБ РАН, реализующий Мероприятие М2.2.8 «Разработка синтетических пробиотиков для терапии возрастных заболеваний» планирует организацию стажировок студентов и сотрудников в лаборатории департамента биохимии и фармакологии школы медицины Нью-Йоркского Университета.

Научный коллектив ИБГ РАН, реализующий Мероприятие М2.3.1 «*Разработка новых инструментов геномного редактирования в клетках эукариот*», планирует продолжение исключительно плодотворных совместных работ с ведущими экспертами в области CRISPR/Cas-систем: Евгением Куниным (НИИ), Фенгом Жангом (MIT), Дженнифер Дудной (UC Berkeley, HHMI) и другими.

Научный коллектив ИБГ РАН, реализующий Мероприятие М2.3.2 «*Усовершенствованные подходы геномного редактирования и доставки в модельных системах in vivo*» продолжит сотрудничество с лабораторией Игоря Ронинсона (Университет Южной Каролины) в области разработки удобной платформы на основе отредактированных линий мышей и дрозофил для тестирования ингибиторов киназы *cdk8*. В разработке усовершенствованных подходов адресной доставки компонентов CRISPR/Cas-системы в определенные ткани заинтересованы лаборатории из Университета Женевы и SCRIPPS Research с целью оптимизации проведения совместной работы по изучению заболевания, ассоциированного с мутацией в гене *GNAO1*.

Научный коллектив ИМБ РАН, реализующий Мероприятие М2.3.3 «*Новые подходы к подавлению негомологичной рекомбинации для встраивания в геномы протяженных фрагментов ДНК*» будет проводить работы по проекту в сотрудничестве с лабораториями Шаффитцел К., Университет Бристоля, Великобритания, лабораторией Кондрашова Ф.А., Institute of Science and Technology, Вена, Австрия.

Коллектив К.В. Северинова, реализующий мероприятие М2.4.2 «*Разработка программного комплекса интерпретируемой оценки целевой и нецелевой активности эффекторного комплекса CRISPR-Cas при помощи глубоких нейронных сетей*», планирует продолжить тесное сотрудничество с Исследовательской Группой Эволюционной Геномики Национального Центра Биотехнологической Информации (г. Бетезда, Соединенные Штаты Америки).

В рамках мероприятия М2.4.3 «*Разработка технологии восстановления CRISPR касет у эпидемиологически значимых микроорганизмов*» К.В. Севериновым будет продолжено сотрудничество с лабораторией проф. Ольги Сутуриной (Институт I2BC, Университет Париж-Саклай, Франция) в направлении, связанном с исследованием CRISPR-Cas иммунитета у *S. difficile*, а также с лабораторией проф. Фредерика Барбута по направлению анализа клинических образцов (Национальная референс-лаборатория *Clostridium difficile*, Hôpitaux de Paris, Франция).

2. Развитие исследовательской инфраструктуры в области геномных исследований и генетических технологий, включая технологии геномного редактирования

2.1. Планы по развитию исследовательской инфраструктуры, включая центры коллективного пользования, уникальные научные установки и биоресурсные коллекции, с учетом реалистичности

Основной целью развития инфраструктуры Центра является способствование эффективному запуску инновационных направлений в области генетических технологий для биомедицины в РФ. В результате развития инфраструктуры Центра будет обеспечен научно-технической и приборной поддержкой цикл работ по разработке технологий получения инновационных генотерапевтических препаратов, диагностических систем и связанных мероприятий, начиная с этапа проведения фундаментальных исследований. Кроме этого, развитая инфраструктура Центра позволит создавать и реализовывать комплекс образовательных программ в области генетических технологий и геномных исследований.

Основные задачи, решаемые при развитии инфраструктуры Центра, направлены на обеспечение возможностей проведения работ по геномным исследованиям, созданию моделей

различных заболеваний в лабораторных животных, развитию технологий анализа единичных клеток, внедрению методов высокоточного геномного редактирования, созданию генотерапевтических препаратов, анализу их функциональных свойств, а также разработке современных диагностических систем, в основе которых лежат достижения в области геномных исследований.

В рамках комплексного подхода к созданию условий для эффективного развития генетических технологий с использованием инфраструктуры Центра будут решены следующие задачи:

- Проведение на базе Центра фундаментальных и прикладных научных проектов, направленных на получение новых знаний в области геномных исследований и развитие генетических технологий.
- Предоставление созданной инфраструктуры Центра для оказания услуг и выполнения совместных работ на мировом уровне с внешними научно-исследовательскими организациями, биотехнологическими компаниями и промышленными партнерами в области трансгеноза, геномного анализа, клеточных технологий и геномного редактирования, анализа единичных клеток.
- Проведение независимой экспертизы, оценки научно-технических проектов, предоставление консультационных услуг в области генетических технологий.
- Разработка образовательных программ и специализированных интенсивных курсов в области генетических технологий.

Мощности создаваемого Центра позволят решать в нем задачи в области геномных исследований и генетических технологий как в рамках проектов участников Центра, так и для других научно-исследовательских, девелоперских и производственных компаний. Создание такой структуры, ориентированной на решение определенного круга задач, позволит ускорить разработку готовых технологических решений в области высокоточного редактирования и генетических технологий, а также снизить затраты сторонних компаний и исследовательских центров при решении задач подобного типа. Наличие развитой инфраструктуры Центра позволит избежать создания собственных подобных структур на площадках небольших организаций, что является слишком затратным, а также требует привлечения высококвалифицированного персонала, имеющего опыт работ в области геномных технологий. Кроме того, имеющийся и создаваемый парк современного высокотехнологичного оборудования, существующие разработки и квалификация сотрудников Центра будут использованы для разработки современных образовательных программ, призванных повысить качество подготовки кадров в области геномных исследований на территории РФ.

Исследовательская инфраструктура Центра исходно будет базироваться на двух центрах коллективного пользования (ЦКП): ЦКП «Геном» ИМБ РАН и ЦКП ИБГ РАН. Параллельно на базе ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России предполагается создать Центр коллективного пользования, в рамках которого будет запущен центр компетенций по получению и анализу комплексных omics данных. Развитие исследовательской инфраструктуры для решения задач проекта будет проводиться по следующим направлениям:

Задача 3.1. Развитие инфраструктуры для проведения исследований на животных моделях заболеваний человека

Мероприятие 3.1.1. Новые *in vivo* модели для молекулярно-генетических исследований

Создание экспериментальных *in vivo* моделей для молекулярно-генетических исследований представляет чрезвычайную актуальность, поскольку позволяет исследовать механизмы развития и прогрессии заболеваний, оценивать эффективность и безопасность лекарственных средств, разрабатывать терапевтические подходы, изучать физиологические процессы и многое другое. Для проведения исследований мирового уровня в данном направлении в рамках задач, решаемых Центром, необходимо развитие соответствующих инфраструктур для содержания и

экспериментальной работы с различными модельными организмами на базе ЦКП ИБГ РАН.

В ЦКП ИБГ РАН есть необходимая инфраструктура для получения геномодифицированных животных, виварий для содержания мышей, крыс и кроликов, а также помещения для коллекций дрозофил. Однако обеспечение запланированных научных проектов (Мероприятия 2.1.1, 2.1.3., 2.1.4, 2.2.3, 2.3.2) в рамках плана развития Центра предполагает увеличение поголовья мышей и кроликов, а также запуск работ по получению кроликов с редактированным геномом и линий-продуцентов человеческих белков (Мероприятие 2.1.4). Поэтому для проведения данных работ планируется провести закупку оборудования для содержания животных (системы клеток, стеллажей, печь для утилизации биоотходов, стерилизаторы и т.п.) с целью совершенствования материально-технической базы вивария и помещений для содержания коллекций лабораторных животных. Реконструкция существующего в ЦКП ИБГ РАН вивария позволит привести его в соответствие с современными требованиями, расширит номенклатуру животных, которые там могут содержаться, насытит его современным виварийным и мониторинговым оборудованием. Параллельно будут созданы общедоступные базы, в которых будет содержаться и своевременно обновляться информация о коллекционных линиях. Данные мероприятия позволят Центру внести вклад в развитие сети биоресурсных коллекций, обеспечивающих сохранение образцов, необходимых для развития генетических технологий, в том числе технологий генетического редактирования, а также их доступность для исследователей. Кроме этого, в ЦКП ИБГ РАН в рамках развития Центра и увеличения возможностей для решения различных задач, связанных с разработкой моделей заболеваний человека в животных (в рамках Задачи 2.1), планируется создать базовые линии трансгенных мышей для обеспечения последующего эффективного и стандартизированного трансгенеза. Подобные линии в ЦКП ИБГ РАН уже созданы и эффективно используются на модели дрозофилы (в том числе для выполнения мероприятий Задачи 1.2), и, учитывая большой опыт в данной области, стала очевидной необходимость проведения такого мероприятия для мышей. В рамках развития возможностей Центра планируется создание базовых линий мышей, которые будут использоваться в основных приложениях с целью моделирования различных генетических процессов. В частности, предполагается получение линий мышей, в которые будет осуществлена интеграция двух разных сайтов для Flp-опосредованной рекомбинации в локусах *Hipp11* и *ROSA26*, названных «безопасными гаванями». Показано, что эти локусы имеют открытый хроматин, что позволяет экспрессировать встраиваемые в эти районы гены в прямой зависимости от силы используемых в векторах регуляторных последовательностей. Интеграция конструкций в эти районы не оказывает негативного влияния на жизнеспособность и физиологические процессы животного. Полученные линии будут выступать платформами и позволят эффективно встраивать по FRT-сайтам целевые конструкции для создания модельных мышей. Одновременно будет инициирована процедура создания коллекции линий мышей для запуска Cre-опосредованной рекомбинации между *LoxP*-сайтами в отдельных тканях, клетках и стадиях развития мыши. Подобная коллекция позволит эффективно работать с линиями кондиционных нокаутов или избыточной экспрессии генов, что является критичным для успешного исследования функций генов, создания моделей заболеваний. Также будут разработаны конструкции, которые позволят одновременно включать/блокировать или мутировать параллельно несколько генов в определенных тканях, что сделает возможным создание моделей онкологических заболеваний определенных органов. Параллельно будут проведены вспомогательные работы по повышению эффективности процедуры замораживания/размораживания спермы мышей коллекционных линий, что позволит на качественно новом уровне содержать мышиную коллекцию.

Мероприятие 3.1.2. Развитие инфраструктуры для проведения предклинических исследований на модельных мышах и рыбах

С целью создания и изучения моделей заболеваний человека на мышах на базе ЦКП «Геном» ИМБ РАН будет реализован проект вивария (см. *Приложение №5 к форме 4, МЗ.1.2*) для работы с трансгенными, нокаутными, нокинными, а также гуманизированными мышами, полученными в ходе реализации задач Центра с применением технологий геномного редактирования. Это

необходимо для принятия, размещения, редеривации, выведения на чистую генетическую основу, дальнейшего разведения и экспериментальной работы с линиями мышей, получение которых будет происходить на базе ИБГ РАН. В настоящее время новые линии мышей после их получения передаются в сертифицированные питомники: Питомник лабораторных животных «Пушино» ФИБХ РАН, Российский национальный центр генетических ресурсов лабораторных животных на базе SPF-вивария ИЦиГ СО РАН и Центр доклинических испытаний ИФАВ РАН. Наличие собственного вивария, как с конвенциональной, так и с SPF-зоной позволит проводить научные исследования в ЦКП создаваемого Центра в соответствии с принятыми международными стандартами по работе с генетически модифицированными лабораторными животными, в том числе с применением прототипов лекарственных препаратов, разрабатываемых в ходе реализации поставленных задач.

Для содержания, разведения и экспериментальной работы с рыбами рода *Nothobranchius*, нового модельного организма для изучения генетических механизмов заболеваний человека, в рамках задач Центра на базе ЦКП «Геном» ИМБ РАН будет реализован проект аквариальной. Данная структура требуется для создания оптимальной среды обитания, в которой будут соблюдены все необходимые условия для культивирования рыб. Для содержания рыб будет применяться циркуляционная система, которая обеспечит постоянную фильтрацию и аэрацию воды. Температура и условия освещения в помещении и в резервуарах будут поддерживаться в заданных пределах. Циркуляционная система будет вмещать резервуары для содержания линий трансгенных рыб, линий рыб дикого типа, а также резервуары для скрещивания рыб и последующего выращивания потомства. Проведение микроинъекций для получения генномодифицированных линий рыб будет осуществляться в ЦКП ИБГ РАН.

Все работы по получению и содержанию модельных трансгенных животных и рыб в части условий безопасности будут проводиться в соответствии с Постановлением Правительства РФ от 16 апреля 2012 г. N 317 «О лицензировании деятельности в области использования возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных (за исключением случая, если указанная деятельность осуществляется в медицинских целях) и генно-инженерно-модифицированных организмов III и IV степеней потенциальной опасности, осуществляемой в замкнутых системах», Приказом Министерства сельского хозяйства РФ от 22 марта 2019 г. N 126 «Об утверждении Методики производства молекулярно-генетического исследования генно-инженерно-модифицированных организмов, используемых для производства кормов и кормовых добавок для животных, а также кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением таких организмов или содержащих такие организмы», Приказом Министерства сельского хозяйства РФ от 4 апреля 2019 г. N 169 «Об утверждении Методики производства молекулярно-генетического исследования генно-инженерно-модифицированных организмов, используемых для производства лекарственных средств для ветеринарного применения».

Задача 3.2. Развитие центров компетенций

Мероприятие 3.2.1. Центр компетенций по трансгенезу и геному редактированию

Одним из ключевых направлений деятельности ИБГ РАН является использование методов редактирования генома и трансгенеза для исследования функций генов, экспрессии целевых белков и создания моделей заболеваний человека на животных и в клеточных линиях. В рамках ЦКП ИБГ РАН существует структурное подразделение «Редактирование геномов млекопитающих», в которое входят лаборатория по получению генномодифицированных млекопитающих и виварий для содержания мышей, крыс и кроликов. Также имеются помещения для коллекций дрозофил. Данное подразделение обладает необходимой инфраструктурой для успешного получения и анализа трансгенных и отредактированных линий животных. Однако увеличивающееся число задач в данном направлении требует усовершенствования существующей базы и работ по интегрированию с другими ЦКП. Для решения задач создаваемого Центра на базе ИБГ РАН будет создано сервисное подразделение, которое будет состоять из 3-4 постоянных сотрудников и отвечать за получение генномодифицированных и трансгенных животных (для

выполнения мероприятий 1.1.1, 1.2.1, 1.2.2, 2.1.1, 2.1.2, 2.1.3, 2.1.4, 2.2.3, 2.3.2).

В ЦКП ИБГ РАН размещен и эффективно функционирует комплекс приборов для проведения микроинъекций с целью трансгенеза животных. В настоящее время ИБГ РАН имеет успешный опыт реализации крупных проектов по генетической модификации сельскохозяйственных животных, большой задел по изучению регуляции экспрессии генов на модельных лабораторных животных, в том числе с использованием методов геномного редактирования. В рамках выполнения научных проектов Центра планируется создание большого числа линий мышей, кроликов и дрозофил с редактированными геномами с целью моделирования различных заболеваний человека и продукции целевых белков. В связи с этим увеличивающиеся объемы работ в данном направлении требуют отладки и запуска дополнительной линии для микроинъекций. В частности, будет закуплено оборудование, подготовлен персонал, и запущен в полном объеме весь цикл от пробоподготовки материала для инъекций до выведения полученных отредактированных и трансгенных животных в линию. Кроме этого, будет развиваться направление, связанное с получением изогенных отредактированных клеточных линий с целью дальнейшей разработки моделей заболеваний. Для работ в данном направлении также будет организована вся необходимая инфраструктура – лабораторное помещение, оснащенное оборудованием для рутинных экспериментов. Также важным направлением в рамках выполнения проектов Центра станет получение генномодифицированных рыб (Мероприятие 2.1.2). На базе ЦКП ИБГ РАН будут отработаны подходы для редактирования генома рыб. Процедуру инъекций планируется адаптировать на линиях микроинъекций для дрозофил, так как методически техники микроинъекций эмбрионов дрозофилы и рыб сходны. Наконец, будут разработаны стандартизированные протоколы пробоподготовки, получения и первичного анализа всех трансгенных организмов, получаемых в рамках задач Центра. Это позволит повысить эффективность создания новых линий животных.

Усовершенствование исследовательской инфраструктуры в данном направлении позволит эффективно выполнять задачи, связанные с анализом новых редакторов и подходов для редактирования геномов, а также обеспечит получение животных моделей заболеваний человека и животных-продуцентов.

Мероприятие 3.2.2. Центр компетенций по полногеномному анализу

ЦКП «Геном» ИМБ РАН является одним из ведущих центров в области геномного анализа. С использованием линейки современного высокопроизводительного оборудования на базе ЦКП «Геном» проводится широкий спектр генетических исследований любого организма, включая анализ дифференциальной экспрессии генов (секвенирование транскриптома), мутаций и структурных изменений генома (секвенирование генома и экзома), эпигенетических изменений (бисульфитное секвенирование), а также *de novo* сборка геномов, таргетное секвенирование панелей генов, ChIP-seq, секвенирование единичных клеток, высокоточный и чувствительный анализ РНК- и ДНК-мишеней, генотипирование, картирование искусственных бактериальных хромосом, анализ сцепления и копийности генов, коротких tandemных повторов и многое другое.

В связи с быстрыми темпами развития генетических технологий, а также необходимостью проведения высокотехнологичных исследований, в рамках выполнения задач создаваемого Центра требуется расширение приборной базы ЦКП «Геном» для повышения производительности секвенирования за счет приобретения системы NovaSeq 6000 (Illumina). Эта система имеет широкое применение, обладает высочайшей производительностью, скоростью и точностью, подходит для работы с масштабными геномными проектами. Для получения высококачественных *de novo* сборок геномов, в том числе геномов объектов для генетического редактирования, необходимо приобретение прибора GridION (Oxford Nanopore), который позволяет получать прочтения длиной до сотен тысяч нуклеотидов. Совместное использование этих двух секвенаторов выведет на новый уровень качество сборки сложных участков геномов и транскриптомов, позволит учитывать при анализе альтернативный сплайсинг, а также модификации ДНК и РНК. Развитие ЦКП «Геном» в этом направлении необходимо для решения

как задач фундаментального характера (регуляция экспрессии генетической информации, эволюционная и популяционная геномика), так и задач, связанных с разработкой генетических технологий (анализ получаемых линий животных с редактированными геномами на уровне геномов, транскриптомов, эпигеномов).

Анализ больших данных стал неотъемлемой частью современных геномных исследований. Для достижения значимых результатов в этой области ежегодно производятся всё большие объемы данных, и для их анализа требуются всё большие вычислительные мощности. В связи с увеличением количества получаемых данных высокопроизводительного секвенирования и, в особенности, роста числа ресурсоемких задач, связанных с *de novo* сборкой геномов и анализом изменений после генетического редактирования, необходимо приобретение вычислительного кластера, включающего 1) высокопроизводительный 8-процессорный сервер на базе процессоров Xeon Platinum (Intel) с достаточным количеством оперативной памяти (не менее 3 Tb) и высокоскоростного дискового пространства (NVMe SSD общим объемом не менее 32 Tb), 2) вычислительную сеть из 1-2-процессорных систем для решения многопоточных задач и 3) хранилище данных объемом не менее 300 Тб. Такое решение позволит эффективно работать с большими данными, получаемыми на секвенаторах NovaSeq 6000 и GridION. Кластер будет размещен в ЦКП «Геном» ИМБ РАН и будет использоваться всеми участниками для проведения биоинформатического анализа полногеномных данных.

Мероприятие 3.2.3. Центр компетенций по микроскопии высокого разрешения и цифровой обработке изображений

В ЦКП ИБГ РАН в настоящее время используются два конфокальных, а также несколько флуоресцентных микроскопов. Технические возможности существующих приборов ограничены по максимальному разрешению, числу каналов детекции и области применения. Развитие сервисного подразделения микроскопии и цифровой обработки изображений позволит на высочайшем уровне проводить исследования различных живых и фиксированных объектов. В последние годы уровень работ с использованием микроскопии высокого разрешения и микроскопии, позволяющей проводить измерения живых образцов с быстрой кинетикой, возрос благодаря техническому прогрессу в данной области. Развитие методов визуализации образцов за дифракционным пределом проложило путь к детальным исследованиям наноструктур и молекулярных механизмов в клетках. При этом детализированная реконструкция трехмерных изображений клеток и тканей живых организмов является сложной задачей из-за слишком высокого фона и объемов изображения. Существующая инфраструктура ЦКП ИБГ РАН будет усовершенствована путем приобретения и запуска микроскопа с технологией LLSM (lattice light sheet microscopy)/SPIM (selective plane illumination microscopy), что даст возможность проводить прижизненные исследования быстрых кинетических процессов в клетках организма (например, динамики связывания регуляторных белков с ДНК-последовательностями регуляторных геномных элементов в процессе выполнения Задачи 1.2), а также микроскопа с технологией STED (stimulated emission depletion) или ее аналогом, что позволит добиться сверхвысокого разрешения исследуемых объектов.

Параллельно в ЦКП ИБГ РАН будет приобретен сервер для высокоскоростной регистрации изображений, получаемых при помощи SPIM-микроскопии и микроскопии высокого разрешения. С использованием этого сервера также будет проводиться цифровая обработка и анализ получаемых изображений.

В рамках развития этого сервисного подразделения в ЦКП ИБГ РАН будут подготовлены постоянные сотрудники-операторы данных приборов, что позволит интенсифицировать исследования в области изучения принципов доставки генотерапевтического материала в клетки (Мероприятия 2.1.1, 2.1.3, 2.1.5, 2.2.3, 2.2.5), структурной организации хроматина внутри ядра (Мероприятия 1.2.1, 1.2.2), внутриклеточного распределения белков интереса (Мероприятия 2.1.2, 2.1.5, 2.2.4, 2.2.5), экспериментов по изучению эффективности привлечения новых редакторов к мишеням (Мероприятия 2.3.1, 2.3.2, 2.3.3, 2.3.4). В результате станет возможным изучение

динамики движения белков между хроматином и межхроматиновым пространством (Задача 1.2), будут исследованы различные метаболические процессы в отдельных клетках (Задача 1.1).

Таким образом, развитие инфраструктуры создаваемого Центра в данном направлении позволит проводить фундаментальные исследования в области генетики, нацеленные на получение результатов мирового уровня в рамках задач по изучению регуляции экспрессии генетической информации, молекулярно-генетических основ иммунитета и иммунотерапии, молекулярных механизмов старения и нейродегенерации. Параллельно будут детально охарактеризованы создаваемые модели заболеваний животных на уровне изменений, происходящих в отдельных клетках.

Мероприятие 3.2.4. Центр компетенций по клеточным технологиям

Одним из ключевых направлений работы ЦКП «Геном» ИМБ РАН являются клеточные технологии. Сотрудники ЦКП обладают большим опытом в области технологий единичных клеток и методов анализа метаболизма живых клеток и тканей в реальном времени. С использованием клеточных технологий в ЦКП «Геном» выполняются исследования гетерогенности клеточной популяции в норме и при патологии, клеточных процессов и путей метаболизма, клеточного старения, гипоксии и дифференциальной экспрессии генов, идентификация редких мутаций, оценка токсичности соединений и новых лекарственных препаратов и многое другое. Развитие приборной базы ЦКП «Геном» в данном направлении необходимо для получения значимых результатов мирового уровня, в том числе в рамках реализации задач создаваемого Центра.

Для совершенствования работы ЦКП планируется приобрести проточный цитофлуориметр FACSAria III (BD Biosciences) с возможностью автоматизированной высокоскоростной сортировки клеток в 96-луночном формате, что является незаменимым в технологиях, связанных с молекулярным клонированием, геномным редактированием, а также для фенотипирования и экспрессионного профилирования редких популяций клеток иммунной системы, полученных из создаваемых в ходе проекта модельных организмов. Кроме того, планируется модернизировать уникальную систему для выделения и манипуляций с единичными клетками DEPArray (Silicon Biosystems) до модели DEPArray NxT. Это позволит визуализировать индивидуальные клетки и проводить их анализ после геномного редактирования, выделять редкие клетки из гетерогенных образцов.

С целью анализа последствий редактирования генома, а также характеристики индивидуальных клеток модельных организмов планируется приобретение станции Chromium Controller (10x Genomics). Данная станция предназначена для подготовки библиотек из генетического материала единичных клеток для последующего высокопроизводительного секвенирования на платформе Illumina. В рамках задач Центра технология 10x Genomics может быть также использована для профилирования иммунного репертуара (за счет целевого обогащения кДНК транскриптами рецепторов T- и B-клеток), анализа структуры хроматина (технология ATAC) и идентификации генетических вариантов, включая однонуклеотидные полиморфизмы, инсерции и делеции, комплексные структурные варианты (на основе баркодирования высокомолекулярной ДНК).

Развитие ЦКП «Геном» в этом направлении позволит получать новые фундаментальные знания и внести существенный вклад в развитие подходов персонализированной медицины.

Мероприятие 3.2.5. Центр компетенций по анализу индивидуальных клеток

Сотрудники РНИМУ имеют большой опыт в исследованиях молекулярных основ генетической предрасположенности к полигенным заболеваниям, патогенных мутаций, связанных с наследственными моногенными заболеваниями, молекулярной диагностике злокачественных новообразований и прогнозировании эффективности противораковой терапии, использовании NGS технологий и анализа данных дифференциальной экспрессии генов, связанных с клеточными линиями в CMap database и проекта L1000.

Актуальность данного направления обусловлена тем, что геномный и транскриптомный состав отдельных клеток теряется в традиционных исследованиях секвенирования, которые анализируют ДНК и/или РНК, выделенные из больших клеточных популяций. В результате как *de novo* мутация генома, так и транскриптомные вариации в клетках будут в значительной степени скрыты. Таким образом, четкое понимание многих биологических процессов – от нормального развития организма до образования и прогрессии опухоли – будет получено только при детальном понимании геномных, эпигеномных и транскрипционных вариаций на уровне отдельных клеток. Кроме того, некоторые типы клеток настолько редки, что одноклеточные подходы становятся первостепенными для их идентификации и характеристики.

В рамках развития Центра предлагается создать на базе РНИМУ им. Н.И. Пирогова сервисное направление, специализирующееся на одноклеточном секвенировании. Данное направление, с одной стороны, будет использовать возможности ИМБ РАН для подготовки библиотек из генетического материала единичных клеток и их последующего использования при секвенировании, с другой стороны, иметь собственные возможности по клеточной сортировке, обработке клеток, одноклеточному секвенированию и биоинформатическому анализу полученных данных. Такая специализация необходима из-за особенности проведения одноклеточного секвенирования и получаемых при этом данных, отличающихся от традиционного секвенирования и требующих специальных навыков и компьютерных инструментов биоинформатического анализа. Работы сервисного направления будут вестись в области создания новых методов диагностики, лечения и изучения генетических основ патогенеза социально значимых (онкологических, сердечно-сосудистых, неврологических) и наследственных заболеваний. Для данного сервисного направления в РНИМУ им. Н.И. Пирогова необходима закупка нового оборудования для сортировки, обработки и хранения клеток, создания библиотек, пробоподготовки и одноклеточного секвенирования.

Биоинформатический анализ и обработка результатов одноклеточного секвенирования, наряду с широко распространенными методами и инструментами, используемыми для традиционного анализа результатов секвенирования NGS-технологиями, требуют применения дополнительных программных средств, предъявляющих свои требования к инфраструктуре (создание набора матриц данных из результатов одноклеточного ДНК-или РНК-секвенирования; нормализация данных, учитывающая особенности одноклеточного секвенирования; коррекция, интеграция, уменьшение размерности данных, отбор значимых параметров, кластерный анализ, анализ траекторий клеток и динамического изменения генной экспрессии, визуализация результатов одноклеточного секвенирования). Поэтому наряду с оборудованием, необходимым для проведения экспериментов по одноклеточному секвенированию, необходима закупка компьютерного оборудования для обеспечения анализа полученных результатов, включающего несколько рабочих станций с 16 ядерными процессорами и 128 Гб оперативной памяти, сервер из четырех 16 ядерных процессоров с 1-2 Тб оперативной памяти и высокоскоростным дисковым пространством (NVMe SSD общим объемом не менее 16 Тб) и хранилище данных объемом не менее 50Тб.

Сервисный центр РНИМУ им. Н.И. Пирогова также будет служить базой для обучения студентов медико-биологического факультета геномным технологиям и обработке получаемых с их помощью данных методами биоинформатики.

Мероприятие 3.2.6. Центр компетенций по получению и анализу комплексных omics данных

На базе ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России планируется создание Центра коллективного пользования «Геномика, протеомика, метаболомика». Данный ЦКП будет специализироваться на решении комплексных задач с пересечением методов геномного, протеомного и метаболомного анализа.

Блок «Геномика» будет построен на базе имеющегося в распоряжении ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России высокопроизводительного оборудования, включающего геномный анализатор

HiSeq2500 в комплексе с системой генерации кластеров cBot, сканер высокоплотных чипов iScan в комплексе с роботизированной системой Tekan Evo, два геномных анализатора Ion Proton в комплекте с системами пробоподготовки Ion Chef One и Touch System, геномный анализатор Oxford Nanopore.

Потенциальные возможности блока будут усилены планирующимся к приобретению оборудованием: генетическим анализатором нуклеиновых кислот PromethION 24, роботизированной системой подготовки библиотек для высокопроизводительного секвенирования Tekan Evo, системой ультразвуковой дезинтеграции LE220-plus Focused-ultrasonicator Covaris, системой препаративного гель-электрофореза E-Gel™ Power Snap.

В рамках блока «Геномика», с учетом имеющегося и планируемого к приобретению приборного парка, будет возможно осуществление следующих услуг:

- секвенирование геномов различной сложности, в том числе вирусов, бактерий и эукариот. Сочетание точности секвенирования платформы Illumina с возможностью получения длинных прочтений платформы Oxford Nanopore позволяет добиться высокого качества прочтения геномных последовательностей различных организмов, минимизируя необходимость дополнительной сшивки фрагментов и обеспечивая достоверность определения точечных нуклеотидных полиморфизмов.

- секвенирование таргетных панелей, в том числе экзомное секвенирование. Может быть реализовано как в формате готовых коммерческих наборов для целевого обогащения, так и явиться результатом разработки собственной панели генов или иных участков генома.

- транскриптомный анализ РНК вирусов, бактерий, эукариот. Может быть реализован для образцов тотальной РНК, полиА РНК и рРНК-деплетированной РНК, полученных из различных вариантов биоматериала.

- анализ статуса метилирования ДНК прокариот и эукариот. Может быть реализован в формате высокоплотной чип-гибридизации Illumina либо определен de novo с использованием технологий Oxford Nanopore.

Использование роботизированной системы подготовки библиотек для высокопроизводительного секвенирования Tekan Evo и системы ультразвуковой дезинтеграции LE220-plus Focused-ultrasonicator Covaris позволит осуществить автоматизацию процесса подготовки библиотек при работе с большим числом образцов, сократит время пробоподготовки и позволит стандартизовать процедуру.

Блок «Протеомика» будет построен на базе имеющейся в распоряжении ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России приборной базы, включающей два тандемных квадруполь-времяпролётных масс-спектрометра высокого разрешения TripleTOF 5600 производства Sciex, квадруполь-времяпролётный масс-спектрометр высокого разрешения Maxis производства Bruker Daltonics, тандемный масс-спектрометр с линейной ионной ловушкой QTrap 4500 производства Sciex и времяпролётный масс-спектрометр UltraFlex Tof/Tof производства Bruker Daltonics.

Потенциальные возможности блока будут усилены планирующимся к приобретению оборудованием: масс-спектрометром высокого разрешения с орбитальной ионной ловушкой Q Exactive HF-X, масс-спектрометром высокого разрешения AbSciex QTRAP 6500+, хроматографической системой ExionLC AC, хроматографической системой Agilent 1290 Infinity II и двумя хроматографическими системами UltiMate™ 3000.

В рамках блока «Протеомика», с учетом имеющегося и планируемого к приобретению приборного парка, будет возможно осуществление следующих услуг:

- качественный и количественный протеомный анализ проб бактериальных культур и эукариот, включая растения и человека, в том числе препаратов сыворотки крови или биоптатов. Разнообразие приборного оборудования позволяет проводить анализ как фрагментированных малокомпонентных белковых смесей, так и тотальных клеточных лизатов. Арсенал методов

осуществления пробоподготовки и варианты программного обеспечения для анализа полученных данных позволяют проводить эксперименты как в безметковом варианте, так и с применением изотопных меток с использованием внутренних изотопно-модифицированных пептидных стандартов или на мультиплексных пробах, полученных методом введения метки стабильного изотопа в клеточную культуру с помощью меченых аминокислот (SILAC).

Протеомный анализ проб включает в себя также и выявление наличия или отсутствия посттрансляционных модификаций (ПТМ), наиболее значимыми из которых являются фосфорилирование, ацетилирование, окисление и метилирование. Определение статуса ПТМ может дать ответы на многие вопросы, связанные с механизмами регуляции, сигналинга и адаптации клеток к различным стрессам.

С учетом планируемой закупки современного высокопроизводительного масс-спектрометрического оборудования открывается возможность проведения протеомного профилирования единичных клеток, что будет являться прорывным этапом как в области фундаментальной науки, так и в прикладных областях (медицина и здравоохранение, криминалистика и т.п.).

Блок «Метаболомика» будет построен на базе имеющегося в распоряжении ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России оборудования, включающего ЯМР-спектроскоп Bruker AVANCE III HD 500MHz и тандемный масс-спектрометр с линейной ионной ловушкой QTrap 4500 производства Sciex.

Потенциальные возможности блока будут усилены планирующимся к приобретению датчиком ЯМР-спектрометра 500 MHz BBI 5mm с поддержкой ATMA.

В рамках блока «Метаболомика», с учетом имеющегося и планируемого к приобретению оборудования, будет возможно осуществление следующих услуг:

- ЯМР-спектроскопия биологических жидкостей с возможностью детекции различных метаболитов.
- масс-спектрометрический анализ низкомолекулярных соединений как с использованием меченных стандартов, так и путем внесения метки в среду для культивации как бактериальных, так и эукариотических клеток.

Для анализа и хранения получаемых данных будет использоваться вычислительный кластер ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России «Puxis» (суммарно 18 вычислительных узлов, 1.92 Тб ОЗУ, 528 ядер; по 2-4 12-ядерных процессора Opteron 6176 2.3 GHz и 64-256 Гб ОЗУ на узел) под управлением CentOS общей мощностью ~ 4 TFLOPS. Для хранения данных будут использоваться отдельные файловые хранилища общим объемом свыше 250 Тб. Кластер позволяет эффективно обрабатывать данные высокопроизводительного секвенирования с использованием общепринятых протоколов и программного обеспечения, в том числе находящегося в открытом доступе, лицензионного и разработанного сотрудниками Центра.

Отличительной особенностью ЦКП «Геномика, протеомика, метаболомика» станет возможность выполнения комплексных исследований с использованием методического потенциала всех трех блоков. Получаемые комплексные данные позволят адекватно интерпретировать результаты, строить модели живых систем, учитывающие данные разного уровня: генома – как основу процессов жизнедеятельности живых организмов, транскриптома, метаболома и протеома – как отражение процессов экспрессии и регуляции генов.

Более того, подобные комплексные исследования открывают перспективы развития современных смежных дисциплин, таких как флаксосомика (исследование метаболических потоков в клетке с учётом компартиментализации), сплайсомика (исследование различных видов и механизмов сплайсинга), РНКомика (транскриптом, а также различные микроРНК, кольцевые РНК и пр.), эпигенетика и эпигеномика, 3D-геномика. Развитие данных направлений на мировом уровне немыслимо без комплексного оснащения Центра базовыми методами.

Также следует отметить, что прикладные биомедицинские исследования становятся всё более сложными, исследуемые процессы – всё более комплексными. В связи с этим, центр компетенций, объединяющий в себе комплекс методов получения максимального количества мультимодальных данных – необходимая составляющая современных исследований.

Таким образом, развитие исследовательской инфраструктуры создаваемого Центра позволит эффективно решать актуальные задачи в области генетических технологий, проводить исследования с высокой результативностью, получать значимые данные мирового уровня, привлекать молодых специалистов и новых пользователей. Выполнение этих условий необходимо для поддержания высокого темпа освоения новых знаний и достижения первенства в исследованиях и разработках, создания инновационной продукции, что обеспечит возможность наиболее эффективно отвечать на большие вызовы, конкурентоспособность и снижение технологической зависимости Российской Федерации.

3. Кадровый потенциал

3.1. Образовательные программы (для вузов и аспирантур), планируемых к разработке и преподаванию сотрудниками центра

Организации-участники Центра имеют длительный опыт успешного взаимодействия и сотрудничества с вузами – РНИМУ им. Н.И. Пирогова, МГУ, МФТИ, Сколтех. Сотрудники центра, многие из которых по совместительству являются доцентами и профессорами вузов, читают лекции студентам и аспирантам по специально разработанным программам.

В целях повышения качества подготовки молодых исследователей и обучающихся в области геномных исследований и генетических технологий запланирована разработка и преподавание следующих новых образовательных курсов и практических занятий для студентов и аспирантов: «Технологии редактирования генома» (лекции и практические занятия, 45 часов), «Современные подходы к иммунотерапии злокачественных образований» (лекции, 15 часов), «Выжить любой ценой: ответ на стресс у бактерий» (лекции, 15 часов), «Создание трансгенных животных (мышей, рыб, насекомых)» (лекции и практические занятия, 60 часов), «Геномная модификация модельного растения *Arabidopsis thaliana*» (практические занятия, 30 часов), «Геномное редактирование бактерий» (практические занятия, 30 часов), «Микроскопия высокого разрешения» (лекции и практические занятия, 60 часов), «Биоинформатический анализ данных» (семинары и практические занятия, 30 часов), «Биоинформатические аспекты геномного редактирования» (семинары и практические занятия, 30 часов), «Основы технологии геномного редактирования» (семинары и практические занятия, 32 часа). Эти курсы лекций и практические занятия, которые будут посещать студенты и аспиранты МФТИ, МГУ, Сколтеха, ИМБ РАН, ИБГ РАН, ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России, а также станут частью образовательных курсов и новых образовательных модулей, разрабатываемых РНИМУ им. Н.И. Пирогова – «Геномные и клеточные технологии» и «Молекулярная иммунология».

Новые образовательные курсы будут также внедрены на базовых кафедрах молекулярной и клеточной биологии МФТИ (находится в ИМБ РАН), молекулярной и трансляционной медицины (находится в ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России), кафедрах иммунологии и молекулярной биологии Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова.

3.2. Планы по участию сотрудников Центра в популяризации науки, преподавании в школах, работе с одаренными детьми, а также по проведению экскурсий для школьников. Количество школьников, принявших участие в экскурсиях, по годам (нарастающим итогом на конец 2024 года)

Организации-участники Центра имеют большой опыт работы со школьниками и одаренными детьми. РНИМУ им. Н.И. Пирогова сотрудничает с 86 общеобразовательными школами, в

которых есть профильные классы, с углубленным изучением химии и биологии. ИБГ РАН взаимодействует сразу по нескольким направлениям с Центром педагогического мастерства (ГАОУ ДПО ЦПМ). ИМБ РАН успешно развивает сотрудничество с московскими школами – ГБОУ Лицей «Вторая школа», ГБОУ Школа №1561, ГБОУ Школа №17, ГБОУ Школа №1205 и ГБОУ Школа №192, многие выпускники которых являются победителями и призерами профильных олимпиад, в том числе всероссийских (см. *Приложение №7 к форме 4, Письма от общеобразовательных школ*).

Сотрудники РНИМУ им. Н.И. Пирогова, ИБГ РАН и ИМБ РАН курируют биологические программы для школьников в Образовательном центре «Сириус», находящемся под патронажем Президента РФ Путина В. В. Цель работы ОЦ «Сириус» заключается в раннем выявлении, развитии и дальнейшей профессиональной поддержке одарённых детей. Участники Центра внесли яркий и заметный вклад в образовательные активности ОЦ «Сириус» Фонда «Талант и успех». За последние 3 года было прочитано более 50 лекций для школьников 7-10 классов (включая «инженерный поток» школьников г. Сочи) и проведены экспериментальные задачи для школьников по биомедицинскому направлению в рамках проектных смен «Большие вызовы» 2017-2019 гг. Для этого в Сириус выезжали группы молодых сотрудников с оборудованием и материалами для экспериментальной работы в течение 24 дней. Навыки преподавания для школьников (что заставило переделать формат научных презентаций) способствовали тому, что участники Центра стали активнее заниматься популяризацией науки - как в форме лекций, так и в форме различных материалов для СМИ.

Сотрудничество со школами будет осуществляться в нескольких форматах, некоторые из которых уже успешно реализуются, а другие только будут внедрены:

- Научно-популярные лекции в школах в рамках «Научной гостиной», рассказывающих школьникам о передовых технологиях и научных открытиях ведущих российских ученых.
- «День науки в школе» - выездные интерактивные семинары и занимательные мастер-классы для школьников, организованные аспирантами и молодыми учеными, которые позволят школьникам познакомиться с научно-исследовательской работой ведущих научных коллективов.
- Проведение экскурсий для заинтересованных школьников в ведущих лабораториях при участии аспирантов и молодых научных сотрудников – «Знакомство с лабораторией», что позволит увидеть, как живет и функционирует научная лаборатория, какие современные методы и технологии, зачастую междисциплинарные, способствуют продвижению научных исследований.
- Проектная деятельность под руководством не только школьного учителя, но и аспирантов или молодых научных сотрудников. Это – возможность участия в реальном научном проекте в лаборатории.
- «День открытых дверей» – новый формат, который, возможно, будет реализован в ближайшей перспективе, для школьников и родителей с целью популяризации науки.
- «Университетские субботы» – цикл занятий, позволяющий школьникам познакомиться со спецификой профессии врача и получить базовые навыки проведения современных медицинских исследований.
- Сотрудничество с образовательным центром «Сириус» в рамках образовательных биологических и олимпиадных программ, а также проектной деятельности.
- Практические ознакомительные занятия для школьников на базе ЦКП ИБГ РАН.

Количество мероприятий, организованных для школьников сотрудниками Центра с целью популяризации науки (нарастающим итогом), составит к 2024 году – более 50 (ориентировочно 3000 школьников), а к 2027 – более 100 (ориентировочно 5000 школьников).

3.3. Планы по организации стажировок сотрудников организации в ведущих мировых научных центрах (в области генетических технологий и смежных

отраслей), количество человек, прошедших стажировки, по годам (нарастающим итогом на конец 2024 года)

В целях повышения квалификации сотрудников Центра в области генетических технологий и геномных исследований и приобретения ими опыта работы в ведущих мировых научных центрах уже достигнуты предварительные договоренности о стажировках в следующих университетах и научных организациях (см. *Приложение №7 к форме 4, Письма о стажировках*):

Университет Нью-Йорка, Нью-Йорк, США (New York University School of Medicine, Лаборатория проф. Evgeny Nudler, Julie Wilson Anderson Professor Investigator, Howard Hughes Medical Institute Biochemistry & Molecular Pharmacology); Университет Техаса, Сан-Антонио, США (University of Texas Health Science Center, San Antonio, Department of Microbiology, Immunology & Molecular Genetics, лаборатория проф. Alexei Tumanov); Институт Макса Планка, Кельн, Германия (Max Planck Institute for Biology of Ageing, лаборатория проф. Dario Riccardo Valenzano), Университет Бристоль, Бристоль, Великобритания, (University of Bristol, The School of Biochemistry Biomedical Science, лаборатория проф. Christiane Berger-Schaffitzel), Раковый Центр Фокс Чейз, Филадельфия, США (Fox Chase Cancer Center, лаборатория проф. Sergei Grivennikov), Институт клеточной биологии и нейробиологии Медицинского университета Шаритэ, Берлин, Германия (Institute of Cell Biology and Neurobiology, Charite Medical University, лаборатория проф. Gregory Wulczyn), Кливлендский университет, Кливленд, США (Cleveland State University, лаборатория проф. Anton Komar), Институт Льюиса Сиглера по интегративной геномике, США (Lewis Sigler Institute for Integrative Genomics, Princeton University, лаборатория проф. Micheal Levine).

Кроме того, запланированы стажировки в Weizmann Institute of Science (Израиль), CalTech (США), University of Chicago (США), Беркли (США), Princeton University, (США), European Molecular Biology Laboratory (Германия), Brown University (США), Institute of Human Genetics (Франция), Институт Канцерогенеза Гюстава Русси (Франция), Center for Genome Architecture, Baylor College of Medicine (США), Massachusetts Institute of Technology (США), Рокфеллерский университет (США), Вагинингенский университет (Нидерланды), Вильнюсский университет (Литва), Университет Канадзавы (Япония).

РНИМУ им. Н.И. Пирогова имеет ряд действующих соглашений о международном сотрудничестве и студенческих обменах, в рамках которых будут также организованы стажировки: Школа медицины им. Паулисы, Федерального университета Сан-Паулу (Бразилия), Римский университет Тор Вергата (Италия), Университет Цукубы (Япония), Хайфонский медицинско-фармацевтический университет (Вьетнам), Национальный центр по изучению гериатрии и геронтологии (Япония), Миланский Государственный Университет (Италия), Перуджинский университет (Италия), Туринский университет (Италия), Университет Кельна (Германия), Университет Лотарингии (Франция), Университет Марибора (Словения), Университет Оиты (Япония), Онкологический центр Fox Chase (США), Университет Цзяньань (Китай), Цзилиньский университет (Китай), Университет Милтон-Кинс (Англия), Лиссабонский Университет (Португалия), Медицинский центр Бней-Цион (Израиль).

Наконец, сотрудники Центра, привлекаемые к работе на высокотехнологичном дорогостоящем оборудовании, будут направляться на обучение в рамках:

- вводных обучающих курсов, предлагаемых фирмами-производителями приборов
- интенсивных курсов с целью повышения квалификации, организуемых в Cold Spring Harbor Laboratories, EMBL, EMBO и др., посвященных различным методам микроскопии, цифровой обработке изображений, различным техникам трансгенеза и манипуляций с геномами, биоинформатическим подходам анализа массивов данных, машинному обучению

Запланировано, что к 2024 году в стажировках в ведущих мировых центрах примут участие 255 человек, а к 2027 – 395 человек.

3.4. Планы по привлечению и закреплению ведущих ученых

В состав коллективов исследователей, разрабатывающих по направлениям Программы Центра новые молекулярные технологии для медицины, будут привлечены выдающиеся ученые, работающие за рубежом или в других городах России, по принципу «зеркальных лабораторий», в которых такие ученые будут развивать свои тематики исследований, соответствующие программе Центра, и привлекать молодых ученых для решения важнейших научных задач:

- А. В. Туманов (Университет Техаса, Сан-Антонио, США). Будут развернуты работы по иммунитету кишечника и другим моделям воспалительных заболеваний, связанных с аутоиммунными процессами, инфекциями и канцерогенезом.

- С. И. Гривенников (Раковый Центр Фокс Чейз, Филадельфия, США) Будут созданы новые тематики исследований с использованием инструментов обратной генетики для изучения важных медиаторов воспаления, таких как TNF, лимфотоксин, ряда интерлейкинов.

- Е. А. Нудлер (Университет Нью-Йорка, США). В рамках научного коллектива ИМБ РАН будет развиваться тематика по биосинтезу новых пробиотиков для терапии возраст-ассоциированных патологий.

- Г. Н. Ениколопов (Cold Spring Harbor Laboratory, США). Будут начаты совместные исследования механизмов передачи клеточных сигналов, а также разрабатываться новые методы детекции и анализа стволовых клеток мозга и других органов и тканей, будут получению репортерные линии животных для анализа стволовых клеток, разработаны неинвазивные методов детекции нейрогенеза в мозге человека и животных.

- А. А. Москалев (Институт биологии Коми НЦ РАН, Сыктывкар) в рамках научного коллектива ИМБ РАН будет заниматься созданием новых *in vivo* моделей для исследования социально значимых заболеваний человека, включая атеросклероз, болезнь Паркинсона и ряда онкологических заболеваний, на основе редактирования генома рыб рода *Nothobranchius*

- В. Л. Бухман (School of Biosciences, Cardiff University, Великобритания) в составе нового подразделения в ИБГ РАН будет проводить работу по разработке моделей нейродегенеративных заболеваний человека путем редактирования и гуманизации генома лабораторных животных.

Также планируется привлечение и закрепление в РНИМУ им. Н.И. Пирогова следующих ведущих ученых: Давид Валлах (h-индекс=70, Weizmann Institute of Science Israel), Мартин Чалфи (h-индекс=53, нобелевский лауреат, Columbia University in the City of New York), Алексей Аравин (h-индекс=33, California Institute of Technology).

Кроме того, будут проводиться открытые конкурсы для привлечения из других научных центров перспективных ученых, имеющих интересы и опыт работы в области разработки генетических технологий для медицины, сельского хозяйства и биобезопасности, на должности руководителей подразделений по определенным направлениям. Все кандидаты должны будут представить программу исследований по направлению работы подразделения на Координационно-научном совете Центра и пройти личные собеседования с руководителями действующих подразделений Центра. По результатам суммарной оценки для организации новых подразделений будут выбраны лучшие, наиболее подходящие по компетенциям ведущие молодые специалисты.

3.5. Планы по сотрудничеству с ведущими вузами, по организации специализированных магистерских программ

ИМБ РАН и ФНКЦ ФХМ ФМБА России имеют большой опыт сотрудничества с ведущими вузами России. Обе организации-участники Центра являются базовыми организациями для кафедры молекулярной и клеточной биологии и кафедры трансляционной и регенеративной медицины МФТИ. Для улучшения подготовки молодых исследователей в области геномных исследований и генетических технологий запланировано создание новой межкафедральной магистерской программы по «Медицинской биотехнологии». В рамках этой программы будут

разработаны следующие курсы:

- «Технологии редактирования генома» (ИМБ РАН);
- «Современные подходы к иммунотерапии злокачественных образований» (ИМБ РАН);
- «Выжить любой ценой: ответ на стресс у бактерий» (ИМБ РАН);
- «Основы технологии геномного редактирования» (ФНКЦ ФХМ ФМБА России).

В ИБГ РАН магистранты и аспиранты программы «Науки о жизни» Сколтеха проходят обязательный лабораторный практикум по молекулярной биологии и геной инженерии. В рамках создаваемой программы подготовки специалистов будут разработаны следующие курсы:

- «Создание трансгенных животных (мышей, рыб, насекомых)»
- «Геномная модификация модельного растения *Arabidopsis thaliana*»
- «Микроскопия высокого разрешения»
- «Биоинформатический анализ данных»

РНИМУ им. Н.И. Пирогова планирует развивать участие в международной программе двойного диплома:

- Программа двойного диплома с Миланским государственным университетом (Università degli Studi di Milano или Statale di Milano)
- Программа двойного диплома с Туринским государственным университетом (Università degli studi di Torino)

Участники Центра совместно с профессорско-преподавательским составом. РНИМУ им. Н.И. Пирогова примут участие в разработке специализированных магистерских программ для подготовки специалистов в области медицины с углубленным пониманием механизмов биологических процессов, которые будут сочетать медико-биологические проблемы с объяснением механизмов процессов с точки зрения молекулярной биологии, биохимии и генетики.

Наконец, ИМБ РАН и РНИМУ им. Н.И. Пирогова имеют успешный опыт реализации образовательных программ в Образовательном центре «Сириус», на базе которого в ближайшее время заработает Университет. Запланировано расширение сотрудничества с Образовательным центром «Сириус» в рамках этого Университета.

3.6. Планы по привлечению и закреплению перспективных молодых специалистов

Работа по привлечению и закреплению перспективных молодых специалистов в научных коллективах Центра будет построена на создании и поддержании высококонкурентной среды и, в то же время, творческой атмосферы, предотвращающей отъезд молодых людей в зарубежные научные центры. Молодые специалисты (студенты и аспиранты) на начальном этапе будут привлекаться в коллективы на условиях срочного трудового договора, получая достойную заработную плату. По мере научного роста и защиты диссертаций будет проведено зачисление молодых специалистов на штатные должности научных сотрудников в Институтах – участниках Центра на конкурсной основе. Планируется, что численность сотрудников Центра к 2027 году вырастет незначительно, но замещение сотрудников старшего поколения позволит сохранить творческий и научный потенциал и получать результаты мирового уровня. Поддержка молодых ученых будет также включать следующие мероприятия:

- адресная поддержка молодых ученых и специалистов, периодическое проведение конкурсов научных работ молодых ученых с солидным призовым фондом;

- создание новых исследовательских групп и лабораторий, возглавляемых молодыми учеными;
- создание кадрового резерва с зачислением молодых ученых на штатные должности научных сотрудников и работников аппарата управления;
- стимулирование в подаче заявок на грантовое финансирование, в том числе в рамках конкурсов Президентской программы РФ;
- привлечение молодых ученых к образовательным программам, лекциям, формированию новых «центров притяжения» молодежи;
- поддержка заявок на выдачу государственных жилищных сертификатов в рамках государственной программы РФ «Обеспечение доступным и комфортным жильем и коммунальными услугами граждан Российской Федерации»;

Ожидается, что в результате проведения комплекса мероприятий по привлечению и закреплению ведущих ученых и перспективных молодых специалистов их число в Центре составит: к 2024 году – 88 человек, а к 2027 – 126 человек.

4. Вклад программы в достижение целевых показателей и индикаторов Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2027 годы (далее – ФНТП) и национального проекта «Наука»

По направлению «Генетические технологии для медицины»

4.1. Соответствие планируемых научных исследований целям и задачам ФНТП и национального проекта «Наука», достижение в краткосрочной перспективе (3-6 лет) результатов из числа указанных в составе четырех направлений ФНТП

Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины будет проводить исследования мирового уровня по приоритетному направлению «Генетические технологии для медицины» в полном соответствии с целями и задачами ФНТП и национального проекта «Наука». Основной объединяющей идеей создания Центра является развитие генетических технологий, адаптация этих технологий для получения новых знаний о нормальных и патологических процессах в организме и применение этих знаний для решения проблем здоровья человека. Работа Центра приведет к достижению ряда ключевых результатов, предусмотренных ФНТП. Будут созданы новые прорывные технологии и препараты для персонализированной противоопухолевой терапии, инновационные лекарственные препараты и способы лечения ряда аутоиммунных патологий, новые генноинженерные белки - редакторы генома с улучшенной точностью и специфичностью. Важным результатом деятельности Центра станет получение животных и клеточных моделей социально-значимых заболеваний человека и применение этих моделей для поиска и тестирования новых способов диагностики и лечения заболеваний, в том числе вызываемых лекарственно-устойчивыми патогенами.

В рамках задач «1.1. Молекулярно-генетические основы иммунитета и иммунотерапии» и «1.2. Регуляция экспрессии генетической информации» будут проведены следующие мероприятия:

- созданы новые линии «наукоемких» мышей с гуманизацией по генам цитокинов и компонентам иммунологических контрольных точек для оценки эффективности новых лекарств и терапевтических подходов, в том числе при иммунотерапии рака; созданы новые экспериментальные модели аутоиммунных, нейродегенеративных, воспалительных заболеваний и рака; экспериментально установлены модификации генома, обеспечивающие устойчивость к

сепсису, а также предложены инновационные терапевтические стратегии, включая селективную модуляцию микробиоты иммуноглобулинами при лечении воспалительных заболеваний ЖКТ ;

- разработаны новые методы редактирования генов иммунных клеток для создания иммунотерапевтических клеточных препаратов с усиленной противоопухолевой активностью; созданы терапевтические системы на основе модифицированных иммунных клеток, способных размножать онколитические вирусы и осуществлять их доставку в диссеминированные опухолевые очаги; созданы с применением технологии CRISPR/Cas9 модифицированные поксвирусы и герпесвирусы в качестве онколитических средств;

- разработана уникальная платформа для идентификации мотивов последовательностей T-клеточных рецепторов с известной специфичностью, а также ассоциированных с определенными заболеваниями, в качестве диагностических и терапевтических мишеней;

- изучены механизмы транс-сплайсинга и неканонической терминации транскрипции у высших эукариот;

- изучены механизмы сборки регуляторных белковых комплексов на хроматине и роль нарушений 3D генома в развитии генетических заболеваний с применением CRISPR/Cas-системы;

- исследованы генетические основы заболеваний человека при помощи высокоточного геномного редактирования короткоживущих рыб.

Эти мероприятия соответствуют разделам «Создание моделей заболеваний с использованием лабораторных животных или культур клеток» и «Биоинформатический анализ генетических структур, обуславливающих патологические процессы, разработка редакторов и систем доставки, позволяющих избирательно активировать, модифицировать или выключать целевые гены-мишени для задач, решаемых с использованием технологий геномного редактирования».

В рамках задачи «2.1. Генетические технологии для создания доклинических моделей заболеваний человека» будут проведены следующие мероприятия:

- создание предклинических моделей таких аутоиммунных заболеваний, как ревматоидный артрит, болезнь Бехтерева или болезнь Крона, а также моделей с перевиваемыми опухолевыми линиями для исследования активности прототипов новых лекарств, в том числе первых в классе гуманизированных биспецифических мини-антител в генетически-модифицированных и гуманизированных мышцах (М.2.1.1);

- генетическая модификация и гуманизация мышей для создания моделей сердечно-сосудистых патологий человека (М.2.1.2);

- исследование потенциала гуманизации мышей и кроликов по генам белков крови и создание гуманизированных кроликов-продуцентов биологически активных антитромбина и С1-ингибитора человека в молоке (М.2.1.3);

- термогенетические технологии управления активностью клеток мозга для стимуляции нейрогенеза (М.2.1.4).

Эти мероприятия соответствуют разделу «Создание моделей заболеваний с использованием лабораторных животных или культур клеток», что обеспечит с применением генетических технологий создание предклинических моделей заболеваний человека, в которых будут исследованы активности прототипов новых лекарств.

Результаты мероприятий по этим задачам в краткосрочной (3-6 лет) перспективе:

Будет разработана технологическая платформа «гуманизации» мышей для доклинической оценки блокаторов цитокинов и блокаторов иммунологических контрольных точек («чекпойнтов») для терапии аутоиммунных заболеваний и иммунотерапии рака с последующим патентованием и лицензированием новых уникальных линий мышей.

Будут изучены на гуманизированных мышах первые в классе гуманизированные биспецифические мини-антитела для лечения таких аутоиммунных заболеваний, как ревматоидный артрит, болезнь Бехтерева, болезнь Крона, с пониженными побочными эффектами.

Будет разработан метод диагностики и отбора эффективных трансплантатов кишечной микрофлоры с использованием глубокого секвенирования и антител класса IgA, специфичных к различным бактериям, в предклинических моделях кишечного воспаления с дальнейшей стандартизацией под требования *in vitro* диагностики.

Будут усовершенствованы технологии внесения комплексных изменений в геном мышей с использованием CRISPR/Cas9-системы.

Будут созданы четыре новые модели сердечно-сосудистых патологий человека, которые позволят осуществить прорыв в исследованиях механизмов возникновения и развития атеросклероза и поисках его лечения.

Будут получены гуманизированные кролики-продуценты белков антитромбина и C1-ингибитора для терапии орфанных заболеваний человека.

Будет исследована эффективность постинсультной реабилитации (коррекции поведенческого дефицита) животных в модели окклюзии средней мозговой артерии при стимуляции нейрогенеза.

В рамках задачи «2.2. Препараты нового поколения и биомедицинские клеточные продукты» будут проведены следующие мероприятия:

- создание модифицированных генетических систем на основе онколитических вирусов и иммунных клеток для повышения селективности и эффективности иммунотерапии (М.2.2.1);

- платформа для идентификации мотивов последовательностей Т-клеточных рецепторов с известной специфичностью, а также ассоциированных с определенными заболеваниями (М.2.2.2);

- технологии секвенирования и редактирования генома для персонализированной диагностики и соматической коррекции патогенных генетических вариантов, связанных с наследственными заболеваниями у детей (М.2.2.3);

- разработка изогенных клеточных систем для скрининга новых терапевтических молекул против нейродегенеративных полиглутаминовых заболеваний (М.2.2.4);

- разработка клеточной модели невосприимчивости к инфекции ВИЧ-1 на основе генетически-кодируемых пептидных ингибиторов (М.2.2.5);

- разработка технологии репрограммирования аутологичных фибробластов кожи для лечения диабета 1-го типа (М.2.2.6);

- геномные и постгеномные технологии для преодоления проблем устойчивости злокачественных опухолей к лекарственной терапии (М.2.2.7);

- разработка синтетических штаммов-пробиотиков с направленными изменениями генома для терапии возрастных заболеваний (М.2.2.8).

Эти мероприятия соответствуют разделам «Биоинформатический анализ генетических структур, обуславливающих патологические процессы, разработка редакторов и систем доставки, позволяющих избирательно активировать, модифицировать или выключать целевые гены-мишени для задач, решаемых с использованием технологий геномного редактирования», «Противодействие инфекциям, в том числе ретровирусным, при которых происходит встраивание вирусного генетического материала в геном человека».

Результаты мероприятий по задаче 2.2 в краткосрочной (3-6 лет) перспективе:

Будет разработано три штамма рекомбинантных онколитических энтеровирусов для лечения глиальных опухолей головного мозга.

Будет получена клеточная система на основе НК-клеток, способная поддерживать репликацию вирусов и служить в качестве вектора для направленной доставки онколитических вирусов в диссеминированные опухоли.

Будет создана панель стабильных линий клеток на основе НК-клеток с генетическим нокаутом генов контрольных иммунных точек (PD-1, TIM-3, TIGIT), предназначенных для адоптивной иммунотерапии.

Будет разработан штамм ослабленного рекомбинантного вируса осповакцины, несущий в своем составе геном онколитического энтеровируса и способный осуществлять каскадный онколиз. Планируется представить на рынок панель из не менее пяти онколитических вирусов.

Будут определены новые показания для применения секторальной супрессии Т-клеточного иммунитета (ССТИ) TRBV9 для лечения других аутоиммунных заболеваний в дополнение к болезни Бехтерева (увейты, псориатический артрит и другие) и на основе анализа паттернов Т-клеточных рецепторов найдены новые мишени для создания терапевтических антител для направленной элиминации узких групп патологических Т-клеток.

Будет разработана технология лечения наследственных болезней обмена веществ на основе геномного редактирования аутологичных клеток пациента. Будет создан биомедицинский клеточный продукт для проведения доклинических испытаний.

Будут разработаны персонализированные клеточные и животные модели наследственных заболеваний обмена веществ, первичной легочной гипертензии, синдрома Ретта.

Будут созданы изогенные клеточные модели полиглутаминовых заболеваний человека для скрининга лекарственных средств и изучения молекулярных механизмов патологии.

Будут разработаны и апробированы на модельных системах кандидатные лекарственные препараты на основе антисмысловых нуклеотидов для терапии полиглутаминовых заболеваний человека.

Будут разработаны неинвазивные диагностические панели для мониторинга эффективности лечения и детекции резистентных опухолевых клонов при карциномах яичника, молочной железы и прямой кишки.

Будут предложены модификации существующих схем лечения рака яичника, молочной железы и прямой кишки на основании анализа «омиксных» данных парных опухолевых образцов.

Будет впервые получен штамм-пробиотик, продуцирующий рапамицин.

В рамках задачи «2.3. Высокоточные геномные редакторы и системы доставки» будут проведены следующие мероприятия:

- разработка новых инструментов геномного редактирования в клетках эукариот (М.2.3.1);
- усовершенствование подходов генного редактирования и доставки в модельных системах *in vivo* (М.2.3.2);
- создание новых подходов к подавлению негомологичной рекомбинации для встраивания в геномы протяженных фрагментов ДНК (М.2.3.3);
- разработка системы редактирования генома CRISPR-Cas9 с повышенной эффективностью гомологичной рекомбинации (М.2.3.4).

Эти мероприятия соответствуют разделам «Биоинформатический анализ генетических структур, обуславливающих патологические процессы, разработка редакторов и систем доставки, позволяющих избирательно активировать, модифицировать или выключать целевые гены-мишени для задач, решаемых с использованием технологий геномного редактирования» и обеспечат создание и усовершенствование генетических редакторов для работы *in vivo* и *in vitro*, что

позволит, применяя технологии редактирования генома, моделировать патологические состояния человека.

Результаты мероприятий по задаче 2.3 в краткосрочной (3-6 лет) перспективе:

Будут найдены новые Cas-белки уменьшенного размера для использования в вирусных системах доставки, разработаны высокоточные редакторы для манипуляций с клетками эукариот.

Будет разработан геномный редактор нового поколения с повышенной эффективностью гомологичной рекомбинации.

Будет разработана новая технология увеличения эффективности редактирования геномов высших эукариот с использованием протяженной гомологичной матрицы.

Будет разработана технология адресной доставки компонентов CRISPR/Cas-системы в определенные ткани с помощью аденоассоциированных вирусов.

Будет разработана технология адресной доставки компонентов CRISPR/Cas-системы в клетки определенного типа с помощью модульных транспортеров.

Будет собрана коллекция новых редакторов для анализа регуляции работы генов и структурно-функциональной организации белковых комплексов на геномных мишенях *in vivo*.

В рамках задачи «**2.4 Создание принципиально новых средств борьбы с лекарственной устойчивостью патогенов**» планируется осуществление следующих мероприятий:

- CRISPR-биосенсоры для многопараметрического анализа молекулярных маркеров социально значимых заболеваний (М.2.4.1);

- разработка программного комплекса интерпретируемой оценки целевой и нецелевой активности эффекторного комплекса CRISPR-Cas при помощи глубоких нейронных сетей (М.2.4.2);

- разработка технологии восстановления CRISPR кассет у эпидемиологически значимых микроорганизмов» (М.2.4.3);

- создание набора реагентов для полноэкзомного обогащения библиотеки фрагментов ДНК перед высокопроизводительным секвенированием» (М.2.4.4).

Данные мероприятия соответствуют разделам Программы:

- «создание генетических редакторов для работы с лабораторными животными, тканями и культурами клеток», что обеспечит избирательную активацию, модификацию или выключение генов-мишени, ассоциированных с патологическими процессами и генетическими заболеваниями, позволит создавать лекарственные препараты нового поколения и биомедицинские клеточные продукты;

- «создание принципиально новых средств борьбы с лекарственной устойчивостью патогенов», что позволит назначать рациональную персонализированную терапию, за счет быстрого, своевременного и точного выявления генетических детерминант лекарственной устойчивости возбудителей социально-значимых заболеваний.

Результаты по мероприятию М.2.4.1 в краткосрочной (3-6 лет) перспективе:

Будут разработаны, запатентованы, зарегистрированы как медицинское изделие (набор реагентов) для диагностики *in vitro* в Федеральной службе по надзору в сфере здравоохранения РФ и выведены на рынок биосенсоры для анализа генетических детерминант устойчивости возбудителя туберкулеза и гонококковой инфекции к широкому спектру актуальных противомикробных препаратов. Совместно с Тюменским государственным университетом будет создана портативная система на основе CRISPR-биосенсора для идентификации возбудителей клещевых инфекций, проведены ее испытания в полевых условиях. Будет создан биосенсор для проведения «жидкой неинвазивной биопсии» пациента с целью обнаружения мутаций в свободно циркулирующей опухолевой ДНК, ассоциированных с вторичной устойчивостью к таргетной

терапии.

Будет создан макет набора реагентов для диагностики *in vitro* и автоматизированный биоинформатический пайплайн для восстановления состава CRISPR кассет у *C. difficile*, пригодные для использования в медицинских учреждениях (М.2.4.2 и М.2.4.3).

Будет разработана технология полноэкзомного обогащения библиотеки фрагментов ДНК перед высокопроизводительным секвенированием, включающая: 1) нормировку представленности уникальных фрагментов генома; 2) вычитание транскриптома с получением реплики транскрибируемых участков генома. 3) переход на адаптеры под конкретную NGS-платформу для последующего высокопроизводительного секвенирования (М.2.4.4).

Заявляемые результаты полностью соответствуют задачам направления «Генетические технологии для медицины» ФНТП.

4.2. Планируемый вклад в достижение целевых показателей ФНТП и национального проекта «Наука» (на конец 2024 года)

1. Количество статей, опубликованных в журналах первого квартиля, индексируемых в международной базе данных Web of Science Core Collection и (или) Scopus и описывающих оригинальные результаты центра, полученные с помощью генетических технологий – **347**.

2. Количество зарегистрированных результатов интеллектуальной деятельности, основанных на оригинальных результатах центра, полученных с помощью генетических технологий – **112**.

3. Разработанные генетические технологии:

В рамках мероприятия М.2.1.2 «Генетическая модификация и гуманизация мышей для создания моделей сердечно-сосудистых патологий человека»:

- технология создания кондиционных нокаутов с использованием CRISPR/Cas-системы для получения мышинных моделей заболеваний человека (2022 год);

- технология создания и валидации мышинной модели эндотелиальной дисфункции при атеросклерозе сосудов (2025 год);

- технология создания модельных мышей с гуманизированными генами, кодирующими белки, принимающими участие в различных путях метаболизма в эндотелии сосудов (2026 год);

- технология поиска эндотелиопротекторов с использованием мышинных моделей сердечно-сосудистых патологий человека (2027 год).

В рамках мероприятия М.2.1.3 «Исследование потенциала гуманизации мышей и кроликов по белкам крови и создание гуманизированных кроликов-продуцентов биологически активных антитромбина и С1-ингибитора человека в молоке»:

- технология гуманизации животных по генам, кодирующим белки крови (2021 год);

- технология получения гуманизированного продуцента терапевтического белка в молоке (2023 год).

В рамках мероприятия М.2.2.5 «Разработка клеточной модели невосприимчивости к инфекции ВИЧ-1 на основе генетически-кодированных пептидных ингибиторов» - технология получения Т-лимфоцитов человека, «вылеченных» от латентного ВИЧ-1 и устойчивых к последующему заражению вирусом (2024 год).

В рамках мероприятия М.2.2.6 «Разработка технологии репрограммирования аутологических фибробластов кожи для лечения диабета 1-го типа»:

- технология репрограммирования аутологичных фибробластов кожи пациентов с диабетом 1-го типа в инсулин продуцирующие клетки (2024 год).

- технология лечения диабета 1-го типа, на основе репрограммированных аутологичных инсулин-продуцирующих клеток. (2026 год).

В рамках мероприятия М.2.3.1 «Разработка новых инструментов геномного редактирования в клетках эукариот» - технология предсказания и исследования новых CRISPR-Cas систем класса 2 (2024 год)

В рамках мероприятия М.2.3.2 «Разработка усовершенствованных подходов геномного редактирования на основе анализа потенциала применения и доставки новых редакторов в модельных системах *in vivo*»:

– технология сборки *in vitro* эффекторного комплекса редактирования генома (2022 год);

- технология эффективного и направленного внесения замен протяженных участков генома (2025 год);

- технология адресной доставки компонентов CRISPR/Cas-системы в ядра клеток-мишеней с помощью белков-транспортеров (2026 год).

- технология адресной доставки компонентов CRISPR/Cas-системы в определенный тип клеток с помощью аденоассоциированных вирусов (2027 год)

В рамках мероприятия М.2.3.3 «Новые подходы к подавлению негомологичной рекомбинации для встраивания в геномы протяженных фрагментов ДНК»:

- технология определения эффективности встраивания в геномы последовательностей ДНК (лабораторный технологический регламент в 2024 году);

- технология встраивания в геномы протяженных фрагментов ДНК (лабораторный технологический регламент в 2024 году).

В рамках мероприятия М.2.3.4 «Система редактирования генома CRISPR-Cas9 с повышенной эффективностью гомологичной рекомбинации» будет разработана технология редактирования генома с использованием системы CRISPR-Cas9, обеспечивающая эффективную замену протяженных участков генома на произвольные фрагменты ДНК с заданной последовательностью (2024 год)

В рамках мероприятия М.2.4.1 «CRISPR-биосенсоры для многопараметрического анализа молекулярных маркеров социально- значимых заболеваний»:

- набор реагентов на основе CRISPR-биосенсора для мониторинга лекарственной устойчивых форм возбудителя гонококковой инфекции (NG-биосенсор). Опытные образцы набора и начало регистрации в Федеральной службе по надзору в сфере здравоохранения РФ (Росздравнадзоре) как медицинского изделия для диагностики *in vitro* в 2023 году.

- набор реагентов на основе CRISPR-биосенсора для обнаружения возбудителя туберкулеза посредством выявления РНК-сигнатур в сыворотке крови пациента с одновременным анализом детерминант устойчивости к актуальным противотуберкулезным препаратам (ТБ-биосенсор). Опытные образцы набора и начало регистрации в Росздравнадзоре как медицинского изделия для диагностики *in vitro* в 2024 году.

- набор реагентов на основе CRISPR-биосенсора для проведения «жидкой неинвазивной биопсии» пациента с целью обнаружения мутаций в свободно циркулирующей опухолевой ДНК, ассоциированных с вторичной устойчивостью к таргетной терапии (Онко-биосенсор). Опытные образцы набора и начало регистрации в Росздравнадзоре как медицинского изделия для диагностики *in vitro* в 2024 году.

В рамках мероприятия М.2.4.2 «Разработка программного комплекса интерпретируемой оценки целевой и нецелевой активности эффекторного комплекса CRISPR-Cas при помощи глубоких нейронных сетей» - технология предсказания целевой и нецелевой активности систем CRISPR/Cas9 и CRISPR/Cpf1 (2021 год).

В рамках мероприятия М.2.4.3 «Разработка технологии восстановления CRISPR кассет у эпидемиологически значимых микроорганизмов» - технология предсказания чувствительности штамма патогена к бактериофагам на основе подхода восстановления CRISPR-кассет (2023 год).

В рамках мероприятия М.3.1.2 «Развитие инфраструктуры для проведения предклинических исследований на модельных мышах и рыбах»:

- технология получения генетических моделей *in vivo* заболеваний человека на основе редактирования генома короткоживущих рыб (методика, 2023 г.);

- технология создания уникальной модели рыб рода *Nothobranchius* с CRISPR-активацией гена FOXO3A для оценки влияния сверхэкспрессии этого гена на продолжительность жизни и хронические возраст-зависимые заболевания человека (лабораторный технологический регламент, 2024 г.);

- технология создания уникальной модели рыб рода *Nothobranchius* с CRISPR-активацией гена *Klotho* для оценки влияния сверхэкспрессии этого гена на продолжительность жизни и хронические возраст-зависимые заболевания человека (лабораторный технологический регламент, 2025 г.);

- технология создания уникальных моделей рыб рода *Nothobranchius* для исследования онкологических заболеваний человека, ассоциированных с мутациями в драйверных генах (лабораторный технологический регламент, 2025 г.).

4. Разработанные генотерапевтические лекарственные препараты и биомедицинские клеточные продукты.

В рамках мероприятия М.2.2.1 «Создание модифицированных генетических систем на основе онколитических вирусов и иммунных клеток, для повышения селективности и эффективности иммуновиротерапии» будут созданы 10 штаммов рекомбинантных онколитических энтеровирусов для лечения глиальных опухолей головного мозга (4 штамма в 2021 году, по 2 штамма в 2022, 2023 и 2024 гг).

В рамках мероприятия М.2.2.6 «Разработка технологии репрограммирования аутологичных фибробластов кожи для лечения диабета 1-го типа» будет создан:

Биомедицинский клеточный продукт (БМКП) для лечения диабета 1-го типа, на основе репрограммированных аутологичных инсулин-продуцирующих клеток. Начало клинических испытаний – в 2026 году.

4.3. Планируемые к получению новые прорывные научные (научно-технические) результаты с учетом их значимости для соответствующей отрасли (сферы деятельности)

Будет разработана технологическая платформа «гуманизации» мышей для доклинической оценки блокаторов цитокинов для терапии аутоиммунных поражений суставов, мозга и кишечника, и блокаторов иммунологических контрольных точек («чекпойнтов») для иммунотерапии рака кожи и кишечника.

Будет разработан штамм ослабленного рекомбинантного вируса осповакцины, несущий в своем составе геном онколитического энтеровируса и способный осуществлять каскадный онколиз. Будут разработаны принципиально новые схемы терапии на основе панелей онколитических вирусов, с потенциалом достижения многолетних ремиссий у 30% больных глиобластомой.

Будут определены новые показания для применения секторальной супрессии Т-клеточного иммунитета (ССТИ) для лечения других аутоиммунных заболеваний (увеиты, псориатический артрит и другие) и на основе анализа паттернов Т-клеточных рецепторов найдены новые мишени для создания терапевтических антител для направленной элиминации узких групп патологических Т-клеток.

Будет представлена на рынок новая методика диагностики микрофлоры людей с различными патологиями ЖКТ с использованием глубокого секвенирования и антител класса IgA, специфичных к различным компонентам микробиоты.

Будут разработаны новые редакторы и системы их доставки в определенные типы клеток, которые позволят эффективно и с высокой точностью редактировать геномы млекопитающих.

Будет создана новая отечественная универсальная платформа в виде CRISPR-биосенсора для многопараметрического анализа последовательностей нуклеиновых кислот, совмещающая преимущества систем детекции на основе Cas-нуклеаз (чувствительность, изотермичность) и технологии гидрогелевых биочипов (мультиплексность, специфичность, универсальность и готовность к производству). Будут поданы патентные заявки на способ совместной иммобилизации Cas-ферментов, направляющих и детектирующих зондов, способ мультиплексной идентификации геномных мишеней на основе биосенсора с иммобилизованными Cas-нуклеазами. Эти базовые патенты станут основой для разработки, патентования и государственной регистрации в Федеральной службе по надзору в сфере здравоохранения приложений в виде медицинских изделий для диагностики *in vitro* молекулярных маркеров – детерминант лекарственной устойчивости возбудителей социально значимых заболеваний.

Будет создан набор реагентов для анализа возможности и эффективности фаготерапии возбудителя внутрибольничных инфекций, таких как вызванная применением антибиотиков диарея и псевдомембранозный колит. *C. difficile* обладает устойчивостью к большинству известных антибиотиков, поэтому инфекции, вызываемые данной бактерией, являются трудноизлечимыми.

Будет разработана отечественная технология полноэкзомного обогащения библиотеки фрагментов ДНК перед высокопроизводительным секвенированием, что обеспечит запуск производства отечественного набора реагентов для полноэкзомного обогащения под NGS на патентно-чистой основе.

4.4. Актуальность и значимость результатов планируемых научных исследований и разработок для практического использования

Важнейшей задачей современных биомедицинских исследований является борьба с заболеваниями, существенно снижающими качество жизни и приводящими к преждевременной смерти. Современные генетические технологии сделали возможным проводить практически любые манипуляции с геномом, что значительно расширило возможности в исследованиях механизмов возникновения заболеваний, идентификации мутаций, имеющих ключевую роль в этом процессе, воспроизведение заболеваний человека на животных моделях, что позволяет определить оптимальные способы лечения. Развитие технологий генетического редактирования открыло новые перспективы создания *in vivo* моделей заболеваний человека, в том числе так называемую гуманизацию – замену генов животного на человеческие аналоги. Результатом реализации программы станет создание новых линий «наукоемких» мышей с гуманизацией по генам цитокинов и компонентам иммунологических контрольных точек для оценки эффективности новых лекарств и терапевтических подходов. Будут созданы новые экспериментальные модели заболеваний: аутоиммунных, нейродегенеративных, сердечно-сосудистых, воспалительных, обмена и рака, - для исследования их патогенеза, разработки новых диагностикумов и подходов лечения.

Для борьбы с онкологическими заболеваниями предполагается разработать метод стимуляции противоопухолевых механизмов как за счёт повышения иммуногенности опухоли с помощью онколитических вирусов, так и за счёт активации иммунных клеток пациента с помощью методов геномного редактирования. Для разработки высокоспецифических методов иммунотерапии и диагностики онкологических, аутоиммунных и инфекционных заболеваний с помощью постгеномных технологий будет проведен комплексный анализ Т-клеточных рецепторов, специфичных опухолевым антигенам, собственным антигенам при аутоиммунных и антигенам инфекционных агентов. На основании полученных данных будут получены специфические блокаторы отдельных вариантов рецепторов, позволяющих корректировать активность отдельных групп цитотоксических и регуляторных Т-клеток. В частности, после проведения клинических испытаний первых в мире антител для лечения болезни Бехтерева (анкилозирующего спондилита) будут развиты работы по расширению спектра продуктов секторальной супрессии Т-клеточного иммунитета (ССТИ): (1) определены показания для применения этого антитела для лечения других HLA*B2705-позитивных аутоиммунных заболеваний (увейты, псориатический артрит и другие) и (2) найдены новые мишени для создания терапевтических антител против патологических Т-клеток. Также будут проведены работы по получению Т-лимфоцитов человека, устойчивых к широкому спектру изолятов ВИЧ-1.

Как ожидается, уже в ближайшем будущем использование технологий геномного редактирования позволит разработать новые высокоэффективные подходы к лечению онкологических, нейродегенеративных, аутоиммунных, инфекционных и сердечно-сосудистых заболеваний. Однако пока эти методы имеют ряд ограничений, которые связаны с существующей вероятностью внесения нежелательных мутаций в случайные участки генома, что не позволяет использовать эту методику для редактирования генома человека. Второй нерешенной проблемой является преимущественная репарация разрывов по механизму лигирования негомологичных концов ДНК. Это значительно снижает эффективность получения сложных изменений в геноме, для внесения которых необходима гомологичная рекомбинация по внесенной в клетку ДНК-матрице. Поэтому важной частью программы является работа по оптимизации методов геномного редактирования и систем доставки. Будут не просто найдены новые эффективные редакторы, но и проведена их модификация для усовершенствования подходов внесения сложных изменений в геном млекопитающих. Параллельно будут усовершенствованы способы доставки системы редактирования в клетки определенного типа при помощи аденоассоциированных вирусов и с использованием модульных транспортеров, использующих клеточные системы распознавания и транспорта. В результате успешного выполнения программы в данном направлении существенно расширятся возможности эффективного и целенаправленного внесения изменений в геном млекопитающих.

Разработанные CRISPR-биосенсоры позволят оперативно, в том числе в полевых условиях, диагностировать инфекции, проводить рациональную и эффективную антибиотико- и химиотерапию пациентов, осуществлять эпидемиологический контроль за распространением опасных патогенов.

Биосенсоры для анализа лекарственной устойчивости возбудителя туберкулеза придут на смену наборам серий «ТБ-Биочип» и «ТБ-ТЕСТ», разработанных коллективом ИМБ РАН и производимых в настоящее время на условиях лицензионных соглашений ООО «БИОЧИП-ИМБ», на протяжении 15 лет успешно применяющихся более чем в 30 учреждениях противотуберкулезной службы РФ и стран СНГ. Доказана диагностическая и клиническая эффективность биочипов, позволившая в несколько раз повысить число излеченных больных с лекарственно-устойчивыми формами туберкулеза при своевременной постановке анализа с использованием биочипов в сравнении с традиционными подходами. Установлена экономическая эффективность применения данной технологии для диагностики туберкулеза и его лекарственно-устойчивых форм. Согласно расчетам, выполненным ФГУ «Центральный НИИ организации и информатизации здравоохранения» и утвержденным 30.04.2009 г. заместителем Министра здравоохранения и социального развития РФ В.И. Скворцовой, «...экономия бюджетных средств

при внедрении технологии биочипов для диагностики туберкулеза и определения лекарственной чувствительности возбудителя составляет не менее 70 рублей на каждый вложенный рубль». Новое поколение отечественных биосенсоров для диагностики туберкулеза, не требующее дорогостоящего лабораторного оборудования, позволит сделать анализ проще, быстрее и дешевле, что обеспечит еще большую экономию бюджетных ассигнований на лечение.

Разработанный набор реагентов для анализа возможности и эффективности фаготерапии лекарственно-устойчивого возбудителя внутрибольничных инфекций *S. difficile* создаст условия для назначения персонализированной терапии больных, основанной на рациональном применении препаратов нового поколения, не относящихся к антибиотикам, значительно уменьшив количество осложнений, обусловленных внутрибольничными инфекциями.

Первый отечественный набор для полноэкзомного обогащения библиотеки фрагментов ДНК перед высокопроизводительным секвенированием существенно упростит и удешевит применение геномных секвенаторов, обеспечит оценку эффективности технологий геномного редактирования в различных областях, включая медицину, биотехнологии, сельское хозяйство.

Результатом работы Центра, в том числе за счет развития его инфраструктуры, станет создание и усовершенствование научно-технической и приборной базы по разработке технологий получения инновационных генотерапевтических препаратов, диагностических систем и связанных мероприятий, начиная с этапа проведения фундаментальных исследований. Кроме этого, развитая инфраструктура Центра позволит создавать и реализовывать комплекс образовательных программ в области генетических технологий и геномных исследований, что позволит подготовить новое поколение специалистов как для проведения научно-исследовательской работы, так и для развития инновационной фармацевтической индустрии. В ходе выполнения комплексного проекта будут разработаны геномные редакторы и системы доставки, что позволит избирательно активировать, модифицировать или выключать гены-мишени, ассоциированные с патологическими процессами и генетическими заболеваниями. Будут созданы лекарственные препараты нового поколения и биомедицинские клеточные продукты, эффективность которых будет проверена на модельных организмах. С помощью клинических подразделений участников Центра будут апробированы новые оригинальные терапевтические стратегии, которые станут доступны российским пациентам.

5. Организационная структура центра

5. Организационная структура Центра высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины

5.1 Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины (далее – Центр) создается на базе следующих организаций: ИМБ РАН, ИБГ РАН, ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России и ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России (далее – Участники Центра).

5.2. Участник Центра создает новое структурное подразделение, утверждает штатную численность сотрудников подразделения.

5.3. Руководитель Центра - Купраш Дмитрий Владимирович, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник ИМБ РАН.

5.4. Руководитель Центра по согласованию с Участниками Центра утверждает заместителей руководителя Центра.

Заместители руководителя Центра обеспечивают координацию и контроль научно-образовательной, инновационной и иной деятельности Участников Центра.

5.5. В целях эффективного выполнения мероприятий Программы создания и развития Центра

Участники Центра создают Научно-координационный совет, разрабатывают и утверждают Положение о Научно-координационном совете.

5.6. Научно-координационный совет возглавляет руководитель Центра. Помимо руководителя Центра в состав Научно-координационного совета включаются по два представителя Участников Центра.

5.7. Периодичность заседаний Научно-координационного совета устанавливается руководителем Центра. Внеплановые заседания могут проводиться по инициативе руководителя Центра или по требованию любого члена Научно-координационного совета.

Приложение 1

План-график исполнения обязательств по созданию и развитию ЦГИМУ на 2019 – 2027 гг.

№ п/п	Наименование мероприятия	Организации-исполнители (структурные подразделения организаций)	Размерность показателя реализации	Отчетный период, год								
				Значения показателей реализации								
				2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027
1. Получение фундаментальных научных результатов мирового уровня в области генетики												
Задача 1.1 Молекулярно-генетические основы иммунитета и иммунотерапии												
М 1.1.1	Животные модели на основе генетически модифицированных и гуманизированных мышей для изучения механизмов патологического воспаления	ИМБ РАН	Количество статей, ед	1	5	7	8	9	9	9	10	10
М 1.1.2	Вклад механизмов противовирусной защиты клеток и рецепторов иммунных контрольных точек в эффективность вирусного онколиза	ИМБ РАН	Количество статей, ед	1	3	4	4	4	5	5	5	5
М 1.1.3	Систематизация знаний о Т-клеточных рецепторах с определенной антиген-специфичностью, а также ассоциированных с определенным состоянием организма	ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России	Количество статей, ед	1	1	1	2	2	2	2	3	3
Задача 1.2 Регуляция экспрессии генетической информации												
М 1.2.1	Исследование механизма транс-сплайсинга и неканонической терминации транскрипции у высших эукариот	ИБГ РАН	Количество статей, ед	0	1	1	1	1	1	1	2	2
М 1.2.2	Изучение механизмов сборки регуляторных белковых комплексов на хроматине и нарушений 3D генома в развитии генетических заболеваний с применением CRISPR/Cas-системы	ИБГ РАН	Количество статей, ед	2	4	4	4	5	5	5	6	6
М 1.2.3	Исследование генетических основ заболеваний человека при помощи высокоточного геномного редактирования короткоживущих рыб	ИМБ РАН	Количество статей, ед	1	2	3	4	4	4	4	4	4

2. Разработка генетических технологий и получение результатов по направлениям реализации Программы

Задача 2.1 Генетические технологии для создания доклинических моделей заболеваний человека

М 2.1.1	Предклинические модели и исследования активности прототипов новых лекарств в генетически модифицированных и гуманизированных мышах	ИМБ РАН	Количество патентных заявок, ед	0	2	2	2	2	2	3	3	3
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	0	1	1	1	1	1	1
М 2.1.2	Генетическая модификация и гуманизация мышей для создания моделей сердечно-сосудистых патологий человека	ИБГ РАН	Количество статей, ед	0	2	1	2	2	2	2	2	4
			Количество патентных заявок, ед	0	1	2	2	2	2	2	3	3
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	0	1	0	0	1	1	1
М 2.1.3	Исследование потенциала гуманизации мышей и кроликов по белкам крови и создание гуманизированных кроликов-продуцентов биологически активных антитромбина и С1-ингибитора человека в молоке	ИБГ РАН	Количество статей, ед	1	2	2	2	2	2	2	3	3
			Количество патентных заявок, ед	0	1	1	1	2	2	3	3	3
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	1	0	1	0	0	0	0
М 2.1.4	Термогенетические технологии управления активностью клеток мозга для стимуляции нейрогенеза	ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России	Количество статей, ед	1	3	3	3	4	4	4	5	6
			Количество патентных заявок, ед	0	1	1	1	1	1	1	1	1

Задача 2.2 Препараты нового поколения и биомедицинские клеточные продукты

М 2.2.1	Создание модифицированных генетических систем на основе онколитических вирусов и иммунных клеток, для повышения селективности и эффективности иммунотерапии	ИМБ РАН	Количество патентных заявок, ед	0	1	2	2	2	3	3	3	3
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	1	1	2	2	2	2	2
			Количество разработанных генотерапевтических лекарственных препаратов и биомедицинских клеточных продуктов	0	0	4	2	2	2	2	2	2

М 2.2.2	Платформа для идентификации мотивов последовательностей Т-клеточных рецепторов с известной специфичностью, а также ассоциированных с определенными заболеваниями	ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России	Количество статей, ед	1	3	3	4	4	4	5	6	6
			Количество патентных заявок, ед	0	0	0	1	1	1	1	2	2
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	0	0	1	0	1	1	0
М 2.2.3	Подходы к соматической коррекции патологических генетических вариантов, связанных с развитием наследственных заболеваний у детей	ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России	Количество статей, ед	0	2	3	3	3	3	3	4	5
			Количество патентных заявок, ед	0	0	0	0	1	0	0	0	0
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	0	1	2	1	0	0	0
М 2.2.4	Разработка изогенных клеточных систем для скрининга новых терапевтических молекул против нейродегенеративных полиглутаминовых заболеваний	ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России	Количество статей, ед	0	2	3	3	3	3	3	3	3
			Количество патентных заявок, ед	0	0	0	0	1	1	1	1	1
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	1	0	1	0	1	0	0
М 2.2.5	Разработка клеточной модели невосприимчивости к инфекции ВИЧ-1 на основе генетически-кодируемых пептидных ингибиторов	ИБГ РАН	Количество статей, ед	0	2	2	2	2	2	3	3	3
			Количество патентных заявок, ед	0	1	0	1	1	1	1	1	1
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	0	0	0	1	0	0	0
М 2.2.6	Разработка технологии репрограммирования аутологичных фибробластов кожи для лечения диабета 1-го типа	ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России	Количество статей, ед	1	3	3	3	4	4	4	5	6
			Количество патентных заявок, ед	0	1	1	0	1	1	0	1	1
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	0	0	0	1	0	1	0
М 2.2.7	Геномные и постгеномные технологии для преодоления проблем устойчивости злокачественных опухолей к лекарственной терапии	ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России	Количество статей, ед	0	2	3	3	3	3	3	4	4
			Количество патентных заявок, ед	0	0	0	0	0	0	1	1	1
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	0	0	0	0	0	0	1
М 2.2.8	Разработка синтетических штаммов-пробиотиков с направленными изменениями генома для терапии возрастных заболеваний	ИМБ РАН	Количество статей, ед	0	0	1	1	1	1	1	2	2
			Количество патентных заявок, ед	0	0	1	1	1	1	2	2	2

Задача 2.3 Высокоточные геномные редакторы и системы доставки												
М 2.3.1	Разработка новых инструментов геномного редактирования в клетках эукариот	ИБГ РАН	Количество статей, ед	1	2	4	3	3	4	5	6	6
			Количество патентных заявок, ед	0	2	2	2	2	2	2	2	3
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	0	0	0	1	0	0	0
М 2.3.2	Усовершенствованные подходы генного редактирования и доставки в модельных системах in vivo	ИБГ РАН	Количество статей, ед	0	2	2	3	3	3	3	4	6
			Количество патентных заявок, ед	0	0	1	1	1	2	2	2	2
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	0	1	0	0	1	1	1
М 2.3.3	Новые подходы к подавлению негомологичной рекомбинации для встраивания в геномы протяженных фрагментов ДНК	ИМБ РАН	Количество статей, ед	0	1	1	1	2	2	3	3	3
			Количество патентных заявок, ед	0	1	1	1	1	1	1	1	0
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	0	0	1	1	1	1	0
М 2.3.4	Система редактирования генома CRISPR-Cas9 с повышенной эффективностью гомологичной рекомбинации	ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России	Количество статей, ед	1	3	3	3	4	4	4	5	6
			Количество патентных заявок, ед	0	2	2	2	2	2	2	2	2
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	0	0	1	1	1	1	0
Задача 2.4 Создание принципиально новых средств борьбы с лекарственной устойчивостью патогенов												
М 2.4.1	CRISPR-биосенсоры для многопараметрического анализа молекулярных маркеров социально-значимых заболеваний	ИМБ РАН	Количество статей, ед	1	3	3	4	4	4	4	4	4
			Количество патентных заявок, ед	0	2	2	2	2	2	3	3	3
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	0	0	1	1	1	1	0
М 2.4.2	Разработка программного комплекса интерпретируемой оценки целевой и нецелевой активности эффекторного комплекса CRISPR-Cas при помощи глубоких нейронных сетей	ИБГ РАН	Количество статей, ед	0	1	1	1	2	2	2	2	2
			Количество патентных заявок, ед	0	0	0	0	1	1	1	1	1
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	1	0	0	0	0	0	0

М 2.4.3	Разработка технологии восстановления CRISPR кассет у эпидемиологически значимых микроорганизмов	ИБГ РАН	Количество статей, ед	0	1	1	2	2	2	2	2	2
			Количество патентных заявок, ед	0	1	1	1	1	1	1	1	1
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	0	0	1	0	0	0	0
М 2.4.4	Создание набора реагентов для полноэкзомного обогащения библиотеки фрагментов ДНК перед высокопроизводительным секвенированием	ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России	Количество статей, ед	0	3	3	3	3	3	4	5	5
			Количество патентных заявок, ед	0	0	0	1	1	1	1	1	1
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	0	0	0	1	1	0	0
3. Развитие исследовательской инфраструктуры, включая приборную базу центра, центры коллективного пользования, уникальные научные установки и биоресурсные коллекции												
Задача 3.1 Развитие инфраструктуры для проведения исследований на животных моделях заболеваний человека												
М 3.1.1	Новые in vivo модели для молекулярно-генетических исследований	ИБГ РАН	Количество созданных редактированных линий животных, ед	0	2	2	2	2	2	2	2	2
М 3.1.2	Развитие инфраструктуры для проведения предклинических исследований на модельных мышах и рыбах	ИМБ РАН	Количество статей со ссылкой на ЦКП (включая указанные в пунктах 1 и 2 плана-графика), ед	0	2	3	4	5	6	7	8	9
			Количество патентных заявок, ед	0	2	2	3	3	3	4	4	4
			Количество разработанных генетических технологий, ед	0	0	0	1	2	2	3	1	1
Задача 3.2 Развитие центров компетенций												
М 3.2.1	Центр компетенций по трансгенезу и геномному редактированию	ИБГ РАН	Количество статей со ссылкой на ЦКП (включая указанные в пунктах 1 и 2 плана-графика), ед	0	10	10	10	10	10	10	10	10
М 3.2.2	Центр компетенций по полногеномному анализу	ИМБ РАН	Количество статей со ссылкой на ЦКП (включая указанные в пунктах 1 и 2 плана-графика), ед	3	10	10	10	10	10	10	10	10
М 3.2.3	Центр компетенций по микроскопии высокого разрешения и цифровой обработке изображений	ИБГ РАН	Количество статей со ссылкой на ЦКП (включая указанные в пунктах 1 и 2 плана-графика), ед	0	0	2	4	6	8	10	12	14
М 3.2.4	Центр компетенций по клеточным технологиям	ИМБ РАН	Количество статей со ссылкой на ЦКП (включая указанные в пунктах 1 и 2 плана-графика), ед	0	2	3	4	5	6	7	8	9

М 3.2.5	Центр компетенций по анализу индивидуальных клеток	ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России	Количество статей со ссылкой на ЦКП (включая указанные в пунктах 1 и 2 плана-графика), ед	0	1	2	3	3	3	3	3	3
М 3.2.6	Центр компетенций по получению и анализу комплексных omics данных	ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России	Количество статей со ссылкой на ЦКП (включая указанные в пунктах 1 и 2 плана-графика), ед	0	0	0	3	5	6	8	10	12
4. Развитие кадрового потенциала и популяризация науки, включая подготовку кадров, стажировку сотрудников, привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов												
Задача 4 Создание новых и совершенствование существующих образовательных программ по генетическим технологиям, участие в мероприятиях по популяризации науки, подготовка кадров, стажировка сотрудников, привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов												
М 4.1	Создание новых и совершенствование существующих образовательных программ по генетическим технологиям, подготовка кадров, участие в мероприятиях по популяризации науки, стажировка сотрудников, привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов	ИМБ РАН	кол-во образовательных программ (нарастающим итогом)	0	1	1	2	2	3	3	3	3
			количество молодых исследователей и обучающихся, прошедших обучение в центре или принявших участие в реализуемых центрами научных и (или) научно-технических программах и проектах (по годам)	15	16	18	20	24	28	30	35	40
			количество мероприятий по популяризации науки среди школьников (нарастающим итогом)	3	5	7	9	11	13	15	17	20
			количество стажировок (нарастающим итогом)	2	4	6	8	10	10	12	12	15
			привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов (нарастающим итогом)	0	5	10	15	22	24	25	27	29

М 4.2	Создание новых и совершенствование существующих образовательных программ по генетическим технологиям, подготовка кадров, участие в мероприятиях по популяризации науки, стажировка сотрудников, привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов	ИБГ РАН	кол-во образовательных программ (нарастающим итогом)	0	1	1	2	2	3	3	4	4
			количество молодых исследователей и обучающихся, прошедших обучение в центре или принявших участие в реализуемых центрами научных и (или) научно-технических программах и проектах (по годам)	9	11	12	14	16	18	20	22	24
			количество мероприятий по популяризации науки среди школьников (нарастающим итогом)	0	1	2	3	4	5	6	7	8
			количество стажировок (нарастающим итогом)	0	5	10	15	20	25	30	30	30
			привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов (нарастающим итогом)	0	6	9	12	15	18	21	24	27
М 4.3	Создание новых и совершенствование существующих образовательных программ по генетическим технологиям, подготовка кадров, участие в мероприятиях по популяризации науки, стажировка сотрудников, привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов	ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России	кол-во образовательных программ (нарастающим итогом)	2	4	6	8	10	12	14	16	18
			количество молодых исследователей и обучающихся, прошедших обучение в центре или принявших участие в реализуемых центрами научных и (или) научно-технических программах и проектах (по годам)	300	300	300	300	300	300	300	300	300
			количество мероприятий по популяризации науки среди школьников (нарастающим итогом)	20	30	35	38	40	45	50	60	73
			количество стажировок (нарастающим итогом)	10	50	100	140	180	220	250	300	350
			привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов (нарастающим итогом)	0	5	10	20	30	35	40	45	50

М 4.4	Создание новых образовательных курсов по основам технологии геномного редактирования, подготовка кадров, привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов	ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России	кол-во образовательных программ (нарастающим итогом)	0	0	0	1	1	1	1	1	1
			количество молодых исследователей и обучающихся, прошедших обучение в центре или принявших участие в реализуемых центрами научных и (или) научно-технических программах и проектах (по годам)	3	4	5	5	5	5	5	6	6
			привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов (нарастающим итогом)	0	2	4	6	8	11	14	17	20
5. Развитие научно-технического сотрудничества (научно-исследовательскими организациями Российской Федерации, зарубежными научно-исследовательскими организациями, промышленными партнерами)												
Задача 5 Расширение научного сотрудничества с российскими и зарубежными научно-исследовательскими и медицинскими центрами, взаимодействие с промышленными партнерами												
М 5.1	Научное сотрудничество с российскими и зарубежными научно-исследовательскими и медицинскими центрами, взаимодействие с промышленными партнерами в целях реализации мероприятий Программы	ИМБ РАН	Количество заключенных договоров на выполнение исследований в целях реализации мероприятий Программы, ед	3	5	5	5	5	5	5	5	5
			Количество заключенных лицензионных соглашений с промышленными партнерами в целях реализации мероприятий Программы, ед	0	0	0	2	3	4	4	5	5
М 5.2	Научное сотрудничество с российскими и зарубежными научно-исследовательскими и медицинскими центрами, взаимодействие с промышленными партнерами в целях реализации мероприятий Программы	ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России	Количество заключенных договоров на выполнение исследований в целях реализации мероприятий Программы, ед	4	4	4	4	4	4	4	4	4
			Количество заключенных лицензионных соглашений с промышленными партнерами в целях реализации мероприятий Программы, ед	0	1	2	2	2	3	3	3	3

6. Совершенствование структуры организации (реструктуризация сети лабораторий, структурных подразделений и др.)

Задача 6 Совершенствование структуры Центра

М 6.1	Создание новых научных подразделений Центра под руководством ведущих и молодых ученых, реструктуризация лабораторий	ИМБ РАН	Количество новых и реструктуризованных научных подразделений, возглавляемых ведущими и молодыми учеными, ед	0	1	1	1	1	1	0	0	0
М 6.2	Создание новых научных подразделений Центра под руководством ведущих и молодых ученых, реструктуризация лабораторий	ИБГ РАН	Количество новых и реструктуризованных научных подразделений, возглавляемых ведущими и молодыми учеными, ед	0	1	1	1	1	1	0	0	0
М 6.3	Создание новых научных подразделений Центра под руководством ведущих и молодых ученых, реструктуризация лабораторий	ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России	Количество новых и реструктуризованных научных подразделений, возглавляемых ведущими и молодыми учеными, ед	1	5	1	1	1	1	0	0	0

Приложение 2

Перечень показателей, которые планируется достичь в ходе реализации программы создания и развития центра, в том числе для каждого участника центра

Перечень и значения целевых показателей деятельности центра

№ п/п	Показатель	2019	2020	2021	2022	2023	2024 ^{1*}	2025	2026	2027	ИТОГО
		план	план	план	план	план	план	план	план	план	план
1.	Количество статей, опубликованных в журналах первого квартиля, индексируемых в международной базе данных Web of Science Core Collection и (или) Scopus и описывающих оригинальные результаты центра, полученные с помощью генетических технологий	12	52	61	69	75	78	82	95	103	627
2.	Количество зарегистрированных результатов интеллектуальной деятельности, основанных на оригинальных результатах центра, полученных с помощью генетических технологий	0	16	19	22	27	28	32	35	36	215
3.	Количество российских и зарубежных ведущих ученых, работающих в центрах совместно с учеными из других научных организаций Российской Федерации по направлению исследований центра	139	154	169	189	211	224	236	249	259	
4	Количество исследователей центра в возрасте до 39 лет, в отчётном году	73	83	92	105	117	127	127	131	135	
5	Количество молодых исследователей и обучающихся, прошедших обучение в центре или принявших участие в реализуемых центрами научных и (или) научно-технических программах и проектах (нарастающим итогом)	327	658	993	1332	1677	2028	2383	2746	3116	3116
6.	Количество статей в журналах первой квартили, индексируемых в международных базах, опубликованных с использованием разработанных в научных центрах мирового уровня современных	12	52	61	69	75	78	82	95	103	627

¹ В 2024 году целевые показатели результативности деятельности Центра могут быть скорректированы

	методик генетических исследований, в отчетном году										
7.	Количество созданных объектов инфраструктуры по направлениям реализации Программы, включая центры геномных исследований мирового уровня и лаборатории, а также созданных и поддержанных центров коллективного пользования и биоресурсных коллекций в области генетических технологий (нарастающим итогом)	3	3	4	4	5	5	5	5	5	5
8.	Функционирование национального сетевого биоресурсного центра, обеспечивающего формирование, хранение и предоставление образцов в соответствии с мировыми стандартами работы биоресурсных центров, услуги которого востребованы организациями, в том числе реального сектора экономики (нарастающим итогом)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9.	Количество научных статей в области генетических технологий, опубликованных российскими исследователями в научных журналах, индексируемых в базе «Сеть науки» (Web of Science Core Collection)	494	508	518	533	546	559	571	583	595	4907
10.	Количество генетических технологий, разработанных и адаптированных для обеспечения биобезопасности и технологической независимости, а также для использования в медицине, сельском хозяйстве и промышленности (нарастающим итогом)	0	0	3	9	20	31	44	55	60	60
11.	Количество заявок на получение патентов на изобретения в области генетических технологий, поданных заявителями из Российской Федерации	1	33	36	40	44	47	50	54	57	362
12.	Количество разработанных генотерапевтических лекарственных препаратов и биомедицинских клеточных продуктов, содержащих клеточные линии с генетической модификацией, прошедших стадию доклинических исследований (нарастающим итогом)	0	0	4	6	8	11	15	20	24	24
13.	Количество обучающихся, принявших участие в разработанных в рамках Программы образовательных программах (нарастающим итогом)	327	658	993	1332	1677	2028	2383	2746	3116	3116

Перечень и значения целевых показателей деятельности ИМБ РАН (Участника 1)

№ п/п	Показатель	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	ИТОГО
		план									
1.	Количество статей, опубликованных в журналах первого квартиля, индексируемых в международной базе данных Web of Science Core Collection и (или) Scopus и описывающих оригинальные результаты центра, полученные с помощью генетических технологий	4	14	19	23	25	26	26	28	28	193
2.	Количество зарегистрированных результатов интеллектуальной деятельности, основанных на оригинальных результатах центра, полученных с помощью генетических технологий	0	6	8	9	9	10	13	13	13	81
3.	Количество российских и зарубежных ведущих ученых, работающих в центрах совместно с учеными из других научных организаций Российской Федерации по направлению исследований центра	55	60	65	70	77	79	80	82	84	-
4.	Количество исследователей центра в возрасте до 39 лет, в отчетном году	25	31	34	37	42	43	44	45	46	-
5	Количество молодых исследователей и обучающихся, прошедших обучение в центре или принявших участие в реализуемых центрами научных и (или) научно-технических программах и проектах (нарастающим итогом)	15	31	49	69	93	121	151	186	226	226
6.	Количество статей в журналах первой квартили, индексируемых в международных базах, опубликованных с использованием разработанных в научных центрах мирового уровня современных методик генетических исследований, в отчетном году	4	14	19	23	25	26	26	28	28	193
7.	Количество созданных объектов инфраструктуры по направлениям реализации Программы, включая центры геномных исследований мирового уровня и лаборатории, а также созданных и поддерживаемых центров коллективного пользования и биоресурсных коллекций в области генетических технологий	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

8.	Создание и функционирование национального сетевого биоресурсного центра, обеспечивающего формирование, хранение и предоставление образцов в соответствии с мировыми стандартами работы биоресурсных центров, услуги которого востребованы организациями, в том числе реального сектора экономики.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9.	Количество научных статей в области генетических технологий, опубликованных российскими исследователями в научных журналах, индексируемых в базе «Сеть науки» (Web of Science Core Collection)	188	192	195	199	203	206	209	212	215	1819
10.	Количество генетических технологий, разработанных и адаптированных для обеспечения биобезопасности и технологической независимости, а также для использования в медицине, сельском хозяйстве и промышленности (нарастающим итогом)	0	0	1	3	9	15	22	27	30	30
11.	Количество заявок на получение патентов на изобретения в области генетических технологий, поданных заявителями из Российской Федерации	1	14	15	16	17	18	19	20	21	141
12.	Количество разработанных генотерапевтических лекарственных препаратов и биомедицинских клеточных продуктов, содержащих клеточные линии с генетической модификацией, прошедших стадию доклинических исследований (нарастающим итогом)	0	0	4	6	8	10	12	14	16	16
13.	Количество обучающихся, принявших участие в разработанных в рамках Программы образовательных программах (нарастающим итогом)	15	16	18	20	24	28	30	35	40	226

Перечень и значения целевых показателей деятельности ИБГ РАН (Участника 2)

№ п/п	Показатель	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	ИТОГО
		план									
1.	Количество статей, опубликованных в журналах первого квартиля, индексируемых в международной базе данных Web of Science Core Collection и (или) Scopus и описывающих оригинальные результаты центра, полученные с помощью генетических технологий	4	17	18	20	22	23	25	30	34	193
2.	Количество зарегистрированных результатов интеллектуальной деятельности, основанных на оригинальных результатах центра, полученных с помощью генетических технологий	0	6	7	8	10	11	12	13	14	81
3.	Количество российских и зарубежных ведущих ученых, работающих в центрах совместно с учеными из других научных организаций Российской Федерации по направлению исследований центра	26	29	32	35	38	41	44	47	50	-
4.	Количество исследователей центра в возрасте до 39 лет, в отчетном году	18	19	21	23	24	26	26	27	28	-
5.	Количество молодых исследователей и обучающихся, прошедших обучение в центре или принявших участие в реализуемых центрами научных и (или) научно-технических программах и проектах (нарастающим итогом)	9	20	32	46	62	80	100	122	146	146
6.	Количество статей в журналах первой квартили, индексируемых в международных базах, опубликованных с использованием разработанных в научных центрах мирового уровня современных методик генетических исследований, в отчетном году	4	17	18	20	22	23	25	30	34	193
7.	Количество созданных объектов инфраструктуры по направлениям реализации Программы, включая центры геномных исследований мирового уровня и лаборатории, а также созданных и поддержанных центров коллективного пользования и биоресурсных коллекций в области генетических технологий (нарастающим итогом)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

8.	Функционирование национального сетевого биоресурсного центра, обеспечивающего формирование, хранение и предоставление образцов в соответствии с мировыми стандартами работы биоресурсных центров, услуги которого востребованы организациями, в том числе реального сектора экономики	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9.	Количество научных статей в области генетических технологий, опубликованных российскими исследователями в научных журналах, индексируемых в базе «Сеть науки» (Web of Science Core Collection)	166	170	172	175	178	181	184	187	190	1603
10.	Количество генетических технологий, разработанных и адаптированных для обеспечения биобезопасности и технологической независимости, а также для использования в медицине, сельском хозяйстве и промышленности (нарастающим итогом)	0	0	2	4	6	8	10	12	14	14
11.	Количество заявок на получение патентов на изобретения в области генетических технологий, поданных заявителями из Российской Федерации	0	10	11	12	13	14	15	16	17	108
12.	Количество разработанных генотерапевтических лекарственных препаратов и биомедицинских клеточных продуктов, содержащих клеточные линии с генетической модификацией, прошедших стадию доклинических исследований (нарастающим итогом)	0	0	0	0	0	0	0	1	2	2
13.	Количество обучающихся, принявших участие в разработанных в рамках Программы образовательных программах (нарастающим итогом)	9	11	12	14	16	18	20	22	24	146

Перечень и значения целевых показателей деятельности ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Участника 3)

№ п/п	Показатель	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	ИТОГО
		план									
1.	Количество статей, опубликованных в журналах первого квартиля, индексируемых в международной базе данных Web of Science Core Collection и (или) Scopus и описывающих оригинальные результаты центра, полученные с помощью генетических технологий	4	17	18	20	22	23	25	30	34	193
2.	Количество зарегистрированных результатов интеллектуальной деятельности, основанных на оригинальных результатах центра, полученных с помощью генетических технологий	0	4	4	5	7	6	5	7	7	45
3.	Количество российских и зарубежных ведущих ученых, работающих в центрах совместно с учеными из других научных организаций Российской Федерации по направлению исследований центра	40	45	50	60	70	75	80	85	90	-
4.	Количество исследователей центра в возрасте до 39 лет, в отчетном году	20	23	26	32	38	41	41	42	43	-
5	Количество молодых исследователей и обучающихся, прошедших обучение в центре или принявших участие в реализуемых центрами научных и (или) научно-технических программах и проектах (нарастающим итогом)	300	600	900	1200	1500	1800	2100	2400	2700	2700
6.	Количество статей в журналах первой квартили, индексируемых в международных базах, опубликованных с использованием разработанных в научных центрах мирового уровня современных методик генетических исследований, в отчетном году	4	17	18	20	22	23	25	30	34	193
7.	Количество созданных объектов инфраструктуры по направлениям реализации Программы, включая центры геномных исследований мирового уровня и лаборатории, а также созданных и поддержанных центров коллективного пользования и биоресурсных коллекций в области генетических технологий	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

8.	Функционирование национального сетевого биоресурсного центра, обеспечивающего формирование, хранение и предоставление образцов в соответствии с мировыми стандартами работы биоресурсных центров, услуги которого востребованы организациями, в том числе реального сектора экономики.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9.	Количество научных статей в области генетических технологий, опубликованных российскими исследователями в научных журналах, индексируемых в базе «Сеть науки» (Web of Science Core Collection)	126	128	131	135	138	142	145	148	151	1244
10.	Количество генетических технологий, разработанных и адаптированных для обеспечения биобезопасности и технологической независимости, а также для использования в медицине, сельском хозяйстве и промышленности (нарастающим итогом)	0	0	0	1	3	5	8	11	11	11
11.	Количество заявок на получение патентов на изобретения в области генетических технологий, поданных заявителями из Российской Федерации	0	8	9	10	11	12	13	14	15	92
12.	Количество разработанных генотерапевтических лекарственных препаратов и биомедицинских клеточных продуктов, содержащих клеточные линии с генетической модификацией, прошедших стадию доклинических исследований (нарастающим итогом)	0	0	0	0	0	0	1	2	3	3
13.	Количество обучающихся, принявших участие в разработанных в рамках Программы образовательных программах (нарастающим итогом)	300	600	900	1200	1500	1800	2100	2400	2700	2700

Перечень и значения целевых показателей деятельности ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России (Участника 4)

№ п/п	Показатель	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	ИТОГО
		план									
1.	Количество статей, опубликованных в журналах первого квартиля, индексируемых в международной базе данных Web of Science Core Collection и (или) Scopus и описывающих оригинальные результаты центра, полученные с помощью генетических технологий	0	4	6	6	6	6	6	7	7	48
2.	Количество зарегистрированных результатов интеллектуальной деятельности, основанных на оригинальных результатах центра, полученных с помощью генетических технологий	0	0	0	0	1	1	2	2	2	8
3.	Количество российских и зарубежных ведущих ученых, работающих в центрах совместно с учеными из других научных организаций Российской Федерации по направлению исследований центра (нарастающим итогом)	18	20	22	24	26	29	32	35	35	-
4.	Количество исследователей центра в возрасте до 39 лет, в отчетном году	9	10	11	13	14	16	16	17	18	-
5.	Количество молодых исследователей и обучающихся, прошедших обучение в центре или принявших участие в реализуемых центрами научных и (или) научно-технических программах и проектах (нарастающим итогом)	3	7	12	17	22	27	32	38	44	44
6.	Количество статей в журналах первой квартили, индексируемых в международных базах, опубликованных с использованием разработанных в научных центрах мирового уровня современных методик генетических исследований, в отчетном году	0	4	6	6	6	6	6	7	7	48
7.	Количество созданных объектов инфраструктуры по направлениям реализации Программы, включая центры геномных исследований мирового уровня и лаборатории, а также созданных и поддержанных центров коллективного пользования и биоресурсных коллекций в области генетических технологий	0	0	1	1	2	2	2	2	2	2

8.	Функционирование национального сетевого биоресурсного центра, обеспечивающего формирование, хранение и предоставление образцов в соответствии с мировыми стандартами работы биоресурсных центров, услуги которого востребованы организациями, в том числе реального сектора экономики.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9.	Количество научных статей в области генетических технологий, опубликованных российскими исследователями в научных журналах, индексируемых в базе «Сеть науки» (Web of Science Core Collection)	14	18	20	24	27	30	33	36	39	241
10.	Количество генетических технологий, разработанных и адаптированных для обеспечения биобезопасности и технологической независимости, а также для использования в медицине, сельском хозяйстве и промышленности (нарастающим итогом)	0	0	0	1	2	3	4	5	5	5
11.	Количество заявок на получение патентов на изобретения в области генетических технологий, поданных заявителями из Российской Федерации	0	1	1	2	3	3	3	4	4	21
12.	Количество разработанных генотерапевтических лекарственных препаратов и биомедицинских клеточных продуктов, содержащих клеточные линии с генетической модификацией, прошедших стадию доклинических исследований (нарастающим итогом)	0	0	0	0	0	1	2	3	3	3
13	Количество обучающихся, принявших участие в разработанных в рамках Программы образовательных программах (нарастающим итогом)	3	7	12	17	22	27	32	38	44	44

Приложение 3

Обоснование финансового обеспечения программы деятельности центра, включая размеры финансовых средств, предоставляемых на эти цели из федерального бюджета и внебюджетных источников, с указанием конкретных источников таких средств

1. Обоснование финансового обеспечения программы деятельности Центра, включая размеры финансовых средств, предоставляемых на эти цели из федерального бюджета и внебюджетных источников

1.1. Обоснование финансового обеспечения программы деятельности Центра (сводное по всем участникам), включая размеры финансовых средств, предоставляемых на эти цели из федерального бюджета и внебюджетных источников

* к дополнительным средствам относятся привлеченные внебюджетные средства, в том числе от приносящей доход деятельности, средства инвесторов, средства по договорам пожертвования.

Направление расходования средств	Всего, млн. руб.	В том числе, млн. руб.		в том числе, млн. руб.												Пояснения
				2019 год		2020 год		2021 год		2022 год		2023 год		2024 год		
		Средств а субсиди и	Доп. средств а	Средств а субсиди и	Доп. средств а	Средств а субсиди и	Доп. средств а	Средств а субсиди и	Доп. средств а	Средства субсидии	Доп. средств а	Средств а субсиди и	Доп. средств а	Средств а субсиди и	Доп. средств а	
Расходы на выплату вознаграждения работникам центра (не более 60% от средств гранта)	1297,41	1230,90	66,51	65,65	7,47	273,85	14,44	222,85	10,90	222,85	10,90	222,85	10,90	222,85	11,90	Оплата труда сотрудников центра (вместе с начислениями на оплату труда)
Расходы на приобретение оборудования и развития научно-исследовательской инфраструктуры	1420,66	1373,98	46,68	269,86	20,87	990,32	10,61	30,85	4,05	27,85	3,55	27,55	4,05	27,55	3,55	Приобретение научного оборудования, оплата расходов, связанных с созданием вивария и аквариальной системы и их дальнейшим функционированием (инженерные изыскания, проектные работы, работы по капитальному ремонту и другие работы, необходимые для поддержания стандартизированной инфраструктуры)
Расходы на приобретение материалов и комплектующих для оборудования для проведения исследований и разработки технологий и оборудования	945,14	774,20	170,94	81,30	10,96	204,94	40,00	120,59	29,99	121,59	29,99	123,89	30,00	121,89	30,00	Приобретение реактивов, расходных материалов, комплектующих для оборудования и иных материалов, необходимых для выполнения работ по проекту

Расходы на оплату командировок работников центра	16,30	15,90	0,40	0,10	0,00	3,00	0,00	3,20	0,10	3,20	0,10	3,20	0,10	3,20	0,10	0,10	Оплата командировок сотрудников центра для участия в российских и международных конференциях, симпозиумах по тематике Программы
Расходы на оплату участия работников центра в конференциях, научных семинарах, симпозиумах	14,30	14,30	0,00	0,00	0,00	2,70	0,00	2,90	0,00	2,90	0,00	2,90	0,00	2,90	0,00	2,90	Оплата оргвзносов за участие сотрудников центра в конференциях, научных семинарах, симпозиумах
Расходы на оплату организации конференций, научных семинаров, симпозиумов	7,50	6,00	1,50	0,00	0,00	2,00	0,50	0,00	0,00	2,00	0,50	0,00	0,00	2,00	0,50	2,00	Оплата расходов, связанных с организацией конференций, научных семинаров, симпозиумов по тематике Программы
Расходы, связанные с опубликованием научных статей и изданием монографий по результатам, полученным в ходе реализации Программы	32,00	32,00	0,00	0,00	0,00	6,00	0,00	6,50	0,00	6,50	0,00	6,50	0,00	6,50	0,00	6,50	Оплата публикаций по результатам, полученным в ходе реализации Программы
Расходы на оплату работ, выполняемых сторонними организациями (не более 5% от средств гранта)	181,79	96,93	84,86	4,20	6,00	26,25	34,86	16,62	11,00	16,62	11,00	16,62	11,00	16,62	11,00	16,62	Оплата работ, выполняемых сторонними организациями, по тематике Программы
Расходы на оплату текущего ремонта лаборатории, а также прочие расходы, непосредственно связанные с проведением научного исследования и разработки технологий (не более 5% от средств гранта)	126,58	124,64	1,94	8,32	0,94	41,84	0,20	18,62	0,20	18,62	0,20	18,62	0,20	18,62	0,20	18,62	Оплата расходов, связанных с проведением работ по Программе, включая расходы связанные с созданием и поддержанием условий, необходимых для выполнения всего комплекса работ (расходы на коммунальные услуги, услуги связи, услуги по содержанию имущества, оплату труда АУП и вспомогательного персонала, включая начисления на оплату труда, транспортные услуги, приобретение товарно-материальных ценностей и прочие расходы)
Реализация мер по формированию кадрового состава центра, включая привлечение, студентов, аспирантов и молодых научно-педагогических работников, а также зарубежных ученых	42,50	42,50	0,00	2,00	0,00	8,10	0,00	8,10	0,00	8,10	0,00	8,10	0,00	8,10	0,00	8,10	Оплата труда привлеченных для реализации Программы центра студентов, аспирантов, ведущих и перспективных молодых учёных (вместе с начислениями на оплату труда)

Разработка и внедрение новых образовательных программ центра и/или исследовательских программ центра, в том числе при необходимости международных тематических программ	17,00	17,00	0,00	1,00	0,00	7,20	0,00	2,20	0,00	2,20	0,00	2,20	0,00	2,20	0,00	Оплата работ по разработке образовательных программ и их внедрению
Итого	4101,18	3728,35	372,83	432,43	46,24	1566,2	100,61	432,43	56,24	432,43	56,24	432,43	56,25	432,43	57,25	

1.2 Обоснование финансового обеспечения программы деятельности ИМБ РАН (Участника Центра 1), включая размеры финансовых средств, предоставляемых на эти цели из федерального бюджета и внебюджетных источников

Направление расходования средств	Всего, млн. руб.	В том числе, млн. руб.		в том числе, млн. руб.												Пояснения
				2019 год		2020 год		2021 год		2022 год		2023 год		2024 год		
		Средств а субсиди и	Доп. средств а													
Расходы на выплату вознаграждения работникам центра (не более 60% от средств гранта)	387,00	387,00	0,00	14,00	0,00	93,00	0,00	70,00	0,00	70,00	0,00	70,00	0,00	70,00	0,00	Оплата труда сотрудников центра (вместе с начислениями на оплату труда)
Расходы на приобретение оборудования и развития научно-исследовательской инфраструктуры	541,08	519,34	21,74	89,36	8,74	338,38	0,00	25,30	3,25	22,30	3,25	22,00	3,25	22,00	3,25	Приобретение научного оборудования, оплата расходов, связанных с созданием вивария и аквариальной системы и их дальнейшим функционированием (инженерные изыскания, проектные работы, работы по капитальному ремонту и другие работы, необходимые для поддержания стандартизированной инфраструктуры)
Расходы на приобретение материалов и комплектующих для оборудования для проведения исследований и разработки технологий и оборудования	291,73	242,76	48,97	40,70	0,00	62,10	26,99	32,59	5,49	35,59	5,49	35,89	5,50	35,89	5,50	Приобретение реактивов, расходных материалов, комплектующих для оборудования и иных материалов, необходимых для выполнения работ по проекту
Расходы на оплату командировок работников центра	5,00	5,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	Оплата командировок сотрудников центра для участия в российских и международных конференциях, симпозиумах по тематике Программы
Расходы на оплату участия работников центра в конференциях, научных семинарах, симпозиумах	3,50	3,50	0,00	0,00	0,00	0,70	0,00	0,70	0,00	0,70	0,00	0,70	0,00	0,70	0,00	Оплата оргвзносов за участие сотрудников центра в конференциях, научных семинарах, симпозиумах
Расходы на оплату организации конференций, научных семинаров, симпозиумов	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

Расходы, связанные с опубликованием научных статей и изданием монографий по результатам, полученным в ходе реализации Программы	10,00	10,00	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	0,00	Оплата публикаций по результатам, полученным в ходе реализации Программы
Расходы на оплату работ, выполняемых сторонними организациями (не более 5% от средств гранта)	102,88	46,48	56,40	0,00	6,00	17,00	26,40	7,37	6,00	7,37	6,00	7,37	6,00	7,37	6,00	7,37	Оплата работ, выполняемых сторонними организациями, по тематике Программы
Расходы на оплату текущего ремонта лаборатории, а также прочие расходы, непосредственно связанные с проведением научного исследования и разработки технологий (не более 5% от средств гранта)	51,55	51,55	0,00	3,37	0,00	18,70	0,00	7,37	0,00	7,37	0,00	7,37	0,00	7,37	0,00	7,37	Оплата расходов, связанных с проведением работ по Программе, включая расходы связанные с созданием и поддержанием условий, необходимых для выполнения всего комплекса работ (расходы на коммунальные услуги, услуги связи, услуги по содержанию имущества, оплату труда АУП и вспомогательного персонала, включая начисления на оплату труда, транспортные услуги, приобретение товарно-материальных ценностей и прочие расходы)
Реализация мер по формированию кадрового состава центра, включая привлечение, студентов, аспирантов и молодых научно-педагогических работников, а также зарубежных ученых	5,00	5,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00	0,00	1,00	Оплата труда привлеченных для реализации Программы центра студентов, аспирантов, ведущих и перспективных молодых учёных (вместе с начислениями на оплату труда)
Разработка и внедрение новых образовательных программ центра и/или исследовательских программ центра, в том числе при необходимости международных тематических программ	0,50	0,50	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,10	0,00	0,10	0,00	0,10	0,00	0,10	0,00	0,10	Оплата работ по разработке образовательных программ и их внедрению
Итого	1398,24	1271,13	127,11	147,43	14,74	533,98	53,39	147,43	14,74	147,43	14,74	147,43	14,75	147,43	14,75		

* К дополнительным средствам относятся привлеченные внебюджетные средства, в том числе от приносящей доход деятельности, средства инвесторов, средства по договорам пожертвования.

1.3 Обоснование финансового обеспечения программы деятельности ИБГ РАН (Участника Центра 2), включая размеры финансовых средств, предоставляемых на эти цели из федерального бюджета и внебюджетных источников

Направление расходования средств	Всего, млн. руб.	В том числе млн. руб.		в том числе, млн. руб.												Пояснения
				2019 год		2020 год		2021 год		2022 год		2023 год		2024 год		
		Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	
Расходы на выплату вознаграждения работникам центра (не более 60% от средств гранта)	362,00	362,00	0,00	10,00	0,00	72,00	0,00	70,00	0,00	70,00	0,00	70,00	0,00	70,00	0,00	Выплата заработной платы сотрудникам центра (вместе с начислениями на оплату труда)
Расходы на приобретение оборудования и развития научно-исследовательской инфраструктуры	440,12	428,12	12,00	98,50	12,00	309,62	0,00	5,00	0,00	5,00	0,00	5,00	0,00	5,00	0,00	Приобретение научного оборудования
Расходы на приобретение материалов и комплектующих для оборудования для проведения исследований и разработки технологий и оборудования	230,00	167,00	63,00	10,00	0,00	33,00	11,00	31,00	13,00	31,00	13,00	31,00	13,00	31,00	13,00	Приобретение реактивов, расходных материалов, комплектующих для оборудования и иных материалов, необходимых для выполнения работ по проекту
Расходы на оплату командировок работников центра	7,50	7,50	0,00	0,00	0,00	1,50	0,00	1,50	0,00	1,50	0,00	1,50	0,00	1,50	0,00	Оплата поездок сотрудников центра для участия в российских и международных конференциях, симпозиумах по тематике Программы
Расходы на оплату участия работников центра в конференциях, научных семинарах, симпозиумах	7,50	7,50	0,00	0,00	0,00	1,50	0,00	1,50	0,00	1,50	0,00	1,50	0,00	1,50	0,00	Оплата участия работников центра в конференциях, научных семинарах, симпозиумах
Расходы на оплату организации конференций, научных семинаров, симпозиумов	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Оплата расходов, связанных с организацией конференций, научных семинаров, симпозиумов по тематике Программы
Расходы, связанные с опубликованием научных статей и изданием монографий по результатам, полученным в ходе реализации Программы	15,00	15,00	0,00	0,00	0,00	3,00	0,00	3,00	0,00	3,00	0,00	3,00	0,00	3,00	0,00	Оплата публикаций по результатам, полученным в ходе реализации Программы

Расходы на оплату работ, выполняемых сторонними организациями (не более 5% от средств гранта)	33,46	5,00	28,46	0,00	0,00	1,00	8,46	1,00	5,00	1,00	5,00	1,00	5,00	1,00	5,00	Оплата научно-исследовательских работ, выполняемых сторонними организациями, по тематике Программы
Расходы на оплату текущего ремонта лаборатории, а также прочие расходы, непосредственно связанные с проведением научного исследования и разработки технологий (не более 5% от средств гранта)	22,50	22,50	0,00	1,50	0,00	9,00	0,00	3,00	0,00	3,00	0,00	3,00	0,00	3,00	0,00	Оплата расходов, связанных с проведением работ по Программе, включая расходы связанные с созданием и поддержанием условий, необходимых для выполнения всего комплекса работ (расходы на коммунальные услуги, услуги связи, услуги по содержанию имущества, оплату труда АУП и вспомогательного персонала, включая начисления на оплату труда, транспортные услуги, приобретение товарно-материальных ценностей и прочие расходы)
Реализация мер по формированию кадрового состава центра, включая привлечение, студентов, аспирантов и молодых научно-педагогических работников, а также зарубежных ученых	10,00	10,00	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	Оплата расходов по привлечению студентов, аспирантов, ведущих и перспективных молодых учёных для реализации Программы центра
Разработка и внедрение новых образовательных программ центра и/или исследовательских программ центра, в том числе при необходимости международных тематических программ	10,00	10,00	0,00	0,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	2,00	0,00	Оплата работ по разработке образовательных программ и их внедрению
Итого	1138,08	1034,62	103,46	120,00	12,00	434,62	19,46	120,00	18,00	120,00	18,00	120,00	18,00	120,00	18,00	

* К дополнительным средствам относятся привлеченные внебюджетные средства, в том числе от приносящей доход деятельности, средства инвесторов, средства по договорам пожертвования.

1.4 Обоснование финансового обеспечения программы деятельности ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Участника Центра 3), включая размеры финансовых средств, предоставляемых на эти цели из федерального бюджета и внебюджетных источников

Направление расходования средств	Всего, млн. руб.	В том числе, млн. руб.		В том числе, млн. рублей												Пояснения
				2019 год		2020 год		2021 год		2022 год		2023 год		2024 год		
		Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	
Расходы на выплату вознаграждения работникам центра (не более 60% от средств гранта)	420,56	377,10	43,46	31,1	5	90	9,46	64	7	64	7	64	7	64	8	Выплата заработной платы сотрудникам центра (вместе с начислениями на оплату труда)
Расходы на приобретение оборудования и развития научно-исследовательской инфраструктуры	311,00	301,00	10,00	61	0	240	10	0	0	0	0	0	0	0	0	Приобретение научного оборудования
Расходы на приобретение материалов и комплектующих для оборудования для проведения исследований и разработки технологий и оборудования	299,62	249,62	50,00	20,1	10	81,52	0	37	10	37	10	37	10	37	10	Приобретение реактивов, расходных материалов, комплектующих для оборудования и иных материалов, необходимых для выполнения работ по проекту
Расходы на оплату командировок работников центра	2,30	2,30	0,00	0	0	0,3	0	0,5	0	0,5	0	0,5	0	0,5	0	Оплата поездок сотрудников центра для участия в российских и международных конференциях, симпозиумах по тематике Программы
Расходы на оплату участия работников центра в конференциях, научных семинарах, симпозиумах	2,30	2,30	0,00	0	0	0,3	0	0,5	0	0,5	0	0,5	0	0,5	0	Оплата участия работников центра в конференциях, научных семинарах, симпозиумах
Расходы на оплату организации конференций, научных семинаров, симпозиумов	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	Оплата расходов, связанных с организацией конференций, научных семинаров, симпозиумов по тематике Программы
Расходы, связанные с опубликованием научных статей и изданием монографий по результатам, полученным в ходе реализации Программы	4,50	4,50	0,00	0	0	0,5	0	1	0	1	0	1	0	1	0	Оплата публикаций по результатам, полученным в ходе реализации Программы

Расходы на оплату работ, выполняемых сторонними организациями (не более 5% от средств гранта)	33,60	33,60	0,00	3,6	0	6	0	6	0	6	0	6	0	6	0	Оплата научно-исследовательских работ, выполняемых сторонними организациями, по тематике Программы
Расходы на оплату текущего ремонта лабораторий, а также прочие расходы, непосредственно связанные с проведением научного исследования и разработки технологий (не более 5% от средств гранта)	31,20	31,20	0,00	1,2	0	6	0	6	0	6	0	6	0	6	0	Оплата расходов, связанных с проведением работ по Программе, включая расходы связанные с созданием и поддержанием условий, необходимых для выполнения всего комплекса работ (расходы на коммунальные услуги, услуги связи, услуги по содержанию имущества, оплату труда АУП и вспомогательного персонала, включая начисления на оплату труда, транспортные услуги, приобретение товарно-материальных ценностей и прочие расходы)
Реализация мер по формированию кадрового состава центра, включая привлечение, студентов, аспирантов и молодых научно-педагогических работников, а также зарубежных ученых	27,00	27,00	0,00	2	0	5	0	5	0	5	0	5	0	5	0	Оплата расходов по привлечению студентов, аспирантов, ведущих и перспективных молодых учёных для реализации Программы центра
Разработка и внедрение новых образовательных программ центра и/или исследовательских программ центра, в том числе при необходимости международных	6,00	6,00	0,00	1	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Оплата работ по разработке образовательных программ и их внедрению
Итого	1138,08	1034,62	103,46	120,00	15,00	434,62	19,46	120,00	17,00	120,00	17,00	120,00	17,00	120,00	18,00	

* К дополнительным средствам относятся привлеченные внебюджетные средства, в том числе от приносящей доход деятельности, средства инвесторов, средства по договорам пожертвования.

1.5 Обоснование финансового обеспечения программы деятельности ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России (Участника Центра 4), включая размеры финансовых средств, предоставляемых на эти цели из федерального бюджета и внебюджетных источников

Направление расходования средств	Всего, млн. руб.	В том числе, млн. руб.		В том числе, млн. рублей												Пояснения
				2019 год		2020 год		2021 год		2022 год		2023 год		2024 год		
		Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	Средства субсидии	Доп. средства	
Расходы на выплату вознаграждения работникам центра (не более 60% от средств гранта)	127,85	104,80	23,05	10,55	2,47	18,85	4,98	18,85	3,90	18,85	3,90	18,85	3,90	18,85	3,90	Выплата заработной платы сотрудникам центра (вместе с начислениями на оплату труда)
Расходы на приобретение оборудования и развития научно-исследовательской инфраструктуры	128,46	125,52	2,94	21,00	0,13	102,32	0,61	0,55	0,80	0,55	0,30	0,55	0,80	0,55	0,30	Приобретение научного оборудования
Расходы на приобретение материалов и комплектующих для оборудования для проведения исследований и разработки технологий и оборудования	123,79	114,82	8,97	10,50	0,96	28,32	2,01	20,00	1,50	18,00	1,50	20,00	1,50	18,00	1,50	Приобретение реактивов, расходных материалов, комплектующих для оборудования и иных материалов, необходимых для выполнения работ по проекту
Расходы на оплату командировок работников центра	1,50	1,10	0,40	0,10	0,00	0,20	0,00	0,20	0,10	0,20	0,10	0,20	0,10	0,20	0,10	Оплата поездок сотрудников центра для участия в российских и международных конференциях, симпозиумах по тематике Программы
Расходы на оплату участия работников центра в конференциях, научных семинарах, симпозиумах	1,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,20	0,00	0,20	0,00	0,20	0,00	0,20	0,00	0,20	0,00	Оплата участия работников центра в конференциях, научных семинарах, симпозиумах

Расходы на оплату организации конференций, научных семинаров, симпозиумов	7,50	6,00	1,50	0,00	0,00	2,00	0,50	0,00	0,00	2,00	0,50	0,00	0,00	2,00	0,50	Оплата расходов, связанных с организацией конференций, научных семинаров, симпозиумов по тематике Программы
Расходы, связанные с опубликованием научных статей и изданием монографий по результатам, полученным в ходе реализации Программы	2,50	2,50	0,00	0,00	0,00	0,50	0,00	0,50	0,00	0,50	0,00	0,50	0,00	0,50	0,00	Оплата публикаций по результатам, полученным в ходе реализации Программы
Расходы на оплату работ, выполняемых сторонними организациями (не более 5% от средств гранта)	11,85	11,85	0,00	0,60	0,00	2,25	0,00	2,25	0,00	2,25	0,00	2,25	0,00	2,25	0,00	Оплата научно-исследовательских работ, выполняемых сторонними организациями, по тематике Программы
Расходы на оплату текущего ремонта лаборатории, а также прочие расходы, непосредственно связанные с проведением научного исследования и разработки технологий (не более 5% от средств гранта)	21,33	19,39	1,94	2,25	0,94	8,14	0,20	2,25	0,20	2,25	0,20	2,25	0,20	2,25	0,20	Оплата расходов, связанных с проведением работ по Программе, включая расходы связанные с созданием и поддержанием условий, необходимых для выполнения всего комплекса работ (расходы на коммунальные услуги, услуги связи, услуги по содержанию имущества, оплату труда АУП и вспомогательного персонала, включая начисления на оплату труда, транспортные услуги, приобретение товарно-материальных ценностей и прочие расходы)

Реализация мер по формированию кадрового состава центра, включая привлечение, студентов, аспирантов и молодых научно-педагогических работников, а также зарубежных ученых	0,50	0,50	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,10	0,00	0,10	0,00	0,10	0,00	0,10	0,00	0,00	Оплата расходов по привлечению студентов, аспирантов, ведущих и перспективных молодых учёных для реализации Программы центра
Разработка и внедрение новых образовательных программ центра и/или исследовательских программ центра, в том числе при необходимости международных тематических программ	0,50	0,50	0,00	0,00	0,00	0,10	0,00	0,10	0,00	0,10	0,00	0,10	0,00	0,10	0,00	0,00	Оплата работ по разработке образовательных программ и их внедрению
Итого	426,78	387,98	38,80	45,00	4,50	162,98	8,30	45,00	6,50	45,00	6,50	45,00	6,50	45,00	6,50	6,50	

* К дополнительным средствам относятся привлеченные внебюджетные средства, в том числе от приносящей доход деятельности, средства инвесторов, средства по договорам пожертвования.

Приложение 4

Распределение средств между членами консорциума в процентном соотношении

Наименование участника центра	Наименование мероприятий	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027
		Доля средств гранта, %								
ИМБ РАН	М 1.1.1 Животные модели на основе генетически модифицированных и гуманизированных мышей для изучения механизмов патологического воспаления	5,8	2,4	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3
	М 1.1.2 Вклад механизмов противовирусной защиты клеток и рецепторов иммунных контрольных точек в эффективность вирусного онколиза	1,9	0,7	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2	2,2
	М 1.2.3 Исследование генетических основ заболеваний человека при помощи высокоточного геномного редактирования короткоживущих рыб	1,8	1	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7
	М 2.1.1 Предклинические модели и исследования активности прототипов новых лекарств в генетически модифицированных и гуманизированных мышах	6,5	1,8	5	5	5	5	5	5	5
	М 2.2.2 Создание модифицированных генетических систем на основе онколитических вирусов и иммунных клеток, для повышения селективности и эффективности иммунотерапии	2	0,6	2	2	2	2	2	2	2
	М 2.2.8 Разработка синтетических штаммов-пробиотиков с направленными изменениями генома для терапии возрастных заболеваний	1	0,3	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9	1,9
	М. 2.3.3 Новые подходы к подавлению негомологичной рекомбинации для встраивания в геномы протяженных фрагментов ДНК	2,5	0,8	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4
	М. 2.4.1. CRISPR-биосенсоры для многопараметрического анализа молекулярных маркеров социально-значимых заболеваний	6,1	1,8	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2	4,2
	М 3.1.2 Развитие инфраструктуры для проведения предклинических исследований на модельных мышах и рыбах	1,7	11,5	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6	2,6
	М 3.2.2 Центр компетенций по полногеномному	1,2	8	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7

	анализу									
	М 3.2.4 Центр компетенций по клеточным технологиям	0,94	3,4	1,16	1,08	1,16	1,08	1,16	1,08	1,16
	М 4.1 Создание новых и совершенствование существующих образовательных программ по генетическим технологиям, подготовка кадров, участие в мероприятиях по популяризации науки, стажировка сотрудников, привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов	0,6	0,3	1	1	1	1	1	1	1
	М 5.1 Научное сотрудничество с российскими и зарубежными научно-исследовательскими и медицинскими центрами, взаимодействие с промышленными партнерами в целях реализации мероприятий Программы	1,7	1,1	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
	М 6.1 Создание новых научных подразделений Центра под руководством ведущих и молодых ученых, реструктуризация лабораторий	0,5	0,2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
ИБГ РАН	М 1.2.1 Исследование механизма транс-сплайсинга и неканонической терминации транскрипции у высших эукариот	0,88	0,63	1,16	1,16	1,16	1,16	1,16	1,16	1,11
	М 1.2.2 Изучение механизмов сборки регуляторных белковых комплексов на хроматине и нарушений 3D генома в развитии генетических заболеваний с применением CRISPR/Cas-системы	2,12	1,88	3,04	3,04	3,04	3,04	3,04	3,04	3,04
	М 2.1.2 Генетическая модификация и гуманизация мышей для создания моделей сердечно-сосудистых патологий человека	0,8	0,4	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6
	М 2.1.3 Исследование потенциала гуманизации мышей и кроликов по белкам крови и создание гуманизированных кроликов-продуцентов биологически активных антитромбина и С1-ингибитора человека в молоке	0,8	0,4	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,5
	М 2.2.5 Разработка клеточной модели невосприимчивости к инфекции ВИЧ-1 на основе генетически-кодируемых пептидных ингибиторов	0,8	0,4	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6
	М 2.3.1 Разработка новых инструментов геномного редактирования в клетках эукариот	1,9	1	3,7	3,7	3,7	3,7	3,7	3,7	3,9
	М 2.3.2 Усовершенствованные подходы геномного редактирования и доставки в модельных системах in	2,3	1,2	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7

	vivo									
	М 2.4.2 Разработка программного комплекса интерпретируемой оценки целевой и нецелевой активности эффекторного комплекса CRISPR-Cas при помощи глубоких нейронных сетей	0,8	0,4	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6
	М 2.4.3 Разработка технологии восстановления CRISPR кассет у эпидемиологически значимых микроорганизмов	0,8	0,4	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6
	М 3.1.1 Новые in vivo модели для молекулярно-генетических исследований	4,6	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
	М 3.2.1 Центр компетенций по трансгенезу и геному редактированию	4,6	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
	М 3.2.3 Центр компетенций по микроскопии высокого разрешения и цифровой обработке изображений	4,6	16,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7
	М 4.2 Создание новых и совершенствование существующих образовательных программ по генетическим технологиям, подготовка кадров, участие в мероприятиях по популяризации науки, стажировка сотрудников, привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов	0,5	0,3	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
	М 6.2 Создание новых научных подразделений Центра под руководством ведущих и молодых ученых, реструктуризация лабораторий	2,3	1,2	1	1	1	1	1	1	1
ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогов а Минздр ава России	М 1.1.3 Систематизация знаний о Т-клеточных рецепторах с определенной антиген-специфичностью, а также ассоциированных с определенным состоянием организма	3,1	5,4	3,7	3,7	3,7	3,7	3,7	3,7	3,7
	М 2.1.4 Термогенетические технологии управления активностью клеток мозга для стимуляции нейрогенеза	2,9	0,8	3	3	3	3	3	3	3
	М 2.2.2 Платформа для идентификации мотивов последовательностей Т-клеточных рецепторов с известной специфичностью, а также ассоциированных с определенными заболеваниями	2,1	4,7	2,3	2,3	2,3	2,3	2,3	2,3	2,3
	М 2.2.3 Подходы к соматической коррекции патологических генетических вариантов, связанных с развитием наследственных заболеваний у детей	2,9	0,8	3	3	3	3	3	3	3
	М 2.2.6 Разработка технологии репрограммирования аутологических фибробластов кожи для лечения диабета 1-го типа	3,9	8,1	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1

	М 2.3.4 Система редактирования генома CRISPR-Cas9 с повышенной эффективностью гомологичной рекомбинации	2,7	5,2	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9
	М 2.4.4 Создание набора реагентов для полноэкзомного обогащения библиотеки фрагментов ДНК перед высокопроизводительным секвенированием	2,9	0,8	3	3	3	3	3	3	3
	М 3.2.5 Центр компетенций по анализу индивидуальных клеток	2,3	0,7	3	3	3	3	3	3	3
	М 4.3 Создание новых и совершенствование существующих образовательных программ по генетическим технологиям, подготовка кадров, участие в мероприятиях по популяризации науки, стажировка сотрудников, привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов	2,6	0,7	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
	М 5.2 Научное сотрудничество с российскими и зарубежными научно-исследовательскими и медицинскими центрами, взаимодействие с промышленными партнерами в целях реализации мероприятий Программы	1,4	0,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
	М 6.3 Создание новых научных подразделений Центра под руководством ведущих и молодых ученых, реструктуризация лабораторий	1,2	0,3	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России	М 2.2.4 Разработка изогенных клеточных систем для скрининга новых терапевтических молекул против нейродегенеративных полиглутаминовых заболеваний	3,3	1,3	2,8	2,6	2,8	2,6	2,8	2,6	2,8
	М. 2.2.7 Геномные и постгеномные технологии для преодоления проблем устойчивости злокачественных опухолей к лекарственной терапии	5,4	2	5,5	5,3	5,5	5,3	5,5	5,3	5,5
	М 3.2.6 Центр компетенций по получению и анализу комплексных omics данных	1	6,4	1	1	1	1	1	1	1
	М 4.4 Создание новых образовательных курсов по основам технологии геномного редактирования, подготовка кадров, привлечение и закрепление ведущих ученых и перспективных молодых специалистов	0,26	0,19	0,64	1,12	0,64	1,12	0,64	1,12	0,59
ИТОГО		100	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0