

Только смелым покоряется геном

Генно-инженерные технологии наших ученых открывают путь к решению сложнейших медицинских задач



Размышляя о синтезе генов, представляешь современного Левшу, который с помощью иглы и электронного микроскопа клепает маленькие и бойкие живые организмы, или голливудских монстров из пробирки, по недосмотру вырвавшихся на волю. Дрессированные бактерии с синтезированными генами, которые по заказу наших ученых производят нужные для медицины белковые вещества, – зрелище гораздо более фантастичное. И хоть мы не увидели синтезированный ген своими глазами, рассказ ученых из Института биоорганической химии Национальной академии наук Республики Беларусь, создавших и запатентовавших уникальную технологию синтеза генов, впечатляет.

Эта история началась полвека назад, когда белорусские биологи и химики вплотную заинтересовались белками.

– Я пришел в институт в 1974 году, и с тех пор мы движемся в этом направлении, – рассказывает Сергей Усанов, член-корреспондент Национальной академии наук Республики Беларусь, профессор, доктор химических наук. – Прогресс огромный. Если бы в 1990 году мне сказали, что стану манипулировать геномами микроорганизмов и они будут синтезировать нужные мне белки, не поверил бы.

Сергей Александрович – глава научной школы, возглавлявший лабораторию химии белка (ныне

лаборатория белковой инженерии) с самого момента ее создания, в 2011–2016 годах – директор Института биоорганической химии, чрезвычайно много сделавший для того, чтобы он превратился в тот храм науки, каким мы видим его сегодня.

После того как Сергей Усанов сложил с себя административные обязанности, институтом и лабораторией белковой инженерии, где синтезируются гены, руководит его бывший аспирант, а ныне кандидат химических наук, доцент Алексей Янцевич. Он вовсе не считает, что именно его лаборатория – сердце института:

– У нас двенадцать сердец, и все они энергично бьются. Исторически за каждой лабораторией закрепилось свое направление, и каждая плодотворно трудится в своем русле. Причем, что важно по нынешним временам, не в отрыве от потребностей страны, а именно для того, чтобы экономика работала, продукция выпускалась, чтобы нашими силами удовлетворялись потребности предприятий и организаций.

Лаборатория белковой инженерии изначально создавалась под производство белков. Часть продуктов здесь же и выпускается.

– Часто бывает, что разработка вроде бы востребована экономикой и страной, но внедрить ее на заводе достаточно сложно, – поясняет Алексей Янцевич. – Хотя бы потому, что объемы не настолько велики, чтобы строить под них предприятие.

Собственное производство Алексей Викторович шуточно именуется микротоннажным, но стоимость производимого – в прямом и переносном смысле – такова, что вспоминаешь Маяковского с его пресловутой «добычей радия».

«У нас двенадцать сердец, и все они энергично бьются».

– Чтобы приобрести несколько наногаммов синтетического гена – крохотную пылинку, не видимую невооруженным глазом, – нужно заплатить несколько тысяч долларов, – улыбается он.

Наногамм – это миллиардная доля грамма, и добывается она не «в год», как у поэта, а в считанные дни.

Откуда тянутся корни этой идеи?

– Белки составляют основу человеческого организма, но в Беларуси никто до нас ими не занимался, – рассказывает Сергей Усанов.

Задача на первых порах состояла в том, чтобы выяснить структуру и функцию белков, на основе которых в организме создаются сложные органические соединения. Например, стероидные гормоны. С этим в институте разобрались. Более того, еще в советское время научились выделять из природных тканей нужные вещества и доказали, что они действительно работают в синтезе гормонов.



С главой научной школы Сергеем Усановым его ученики советуются по всем вопросам

Но это был лишь первый шаг к созданию новых лекарственных средств и, как потом оказалось, к синтезу гена.

– Где-то в 1986 году я уехал в Америку, чтобы освоить методы получения рекомбинантных белков, – продолжает Сергей Александрович, – то есть точной копии тех, которые присутствуют в человеческом организме, но получены из бактерий.

О синтезе гена тогда не думали, хотя в мировой науке уже гремело имя американо-индийского ученого Хара Гобинда Кораны.

– Используя труд около сотни сотрудников и затратив сотни миллионов долларов, он синтези-

Здание института, спроектированное архитекторами М.К. Виноградовым, Г.Б. Гервакером и Б.З. Поповым, строилось в 1978–1981 годах с расчетом на решение больших и важных научных задач



ровал ген, который кодировал родопсин быка, – поясняет Усанов.

По тем временам это казалось неправдоподобным, но мощно подстегнуло развитие науки.

– Мы научились переносить ген в бактерию и, грубо говоря, ее обманывать, заставляя синтезировать не свойственный ей белок, – продолжает ученый. – На этом этапе удалось очень хорошо манипулировать генами и встраивать их в различные микроорганизмы. Мы – это целая группа ученых, из которых на родину вернулись лишь единицы.

Почему вернулся Усанов? Я спросила, а он откровенно ответил:

– У меня отец офицер Советской армии. Хотелось сделать что-то полезное для Республики Беларусь.

Возвращение ученого в 2001 году совпало с началом эпохи, когда стараниями государства белорусская наука стала воскресать после удара, нанесенного ей перестройкой.

– В 1974 году институт создавался по всем стандартам мировой науки, – рассказывает Алексей Янцевич. – Он демонстрировал высочайший уровень не только по оснащению, но и по планировке и инфраструктуре, что полностью удовлетворяло все потребности ученых.

Слом страны подрубил нашу науку на взлете, но к началу 2000-х она стала вновь расправлять крылья. Ультрасовременные технологии, которые привез с собой Усанов, оказались тут как нельзя кстати.

– В Америке клонировали ДНК-полимеразу, и я привез ее сюда, в Беларусь, – признается он.

ДНК-полимераза – фермент, необходимый для синтеза генов, с ним работал еще Корана. Он же задействован в полимеразной цепной реакции (ПЦР), о которой все слышаны благодаря тестам на ковид.

В былые времена это необходимейшее для генетиков и биологов вещество добывали из экстремофильных организмов – бактерий, которые живут в горячих гейзерах при температуре 80 градусов Цельсия.

Затем наступила другая эпоха, когда ген, извлеченный из экстремофильной бактерии, научились



Молодой директор Алексей Янцевич гордится научными победами института

внедрять, к примеру, в кишечную палочку, дабы она производила нужный нам белок.

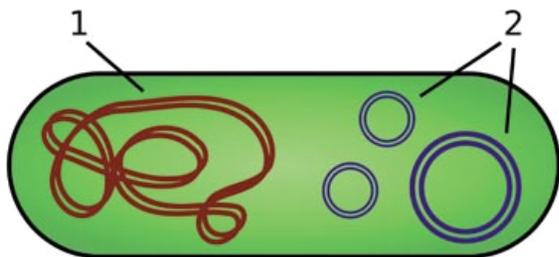
Как это делается? Не иголкой и не под электронным микроскопом. Для целей синтетической биологии подобные инструменты слишком грубы. Вставка делается с помощью плазмид – небольших молекул ДНК, физически обособленных от хромосом и способных самостоятельно размножаться.

– Нарабатываем их в растворах и замораживаем при температуре жидкого азота, – разъясняет Сергей Усанов. – Когда они нужны, внедряем их в бактерию, и она их размножает в огромном количестве. После чего плазмиду разрезаем, вставляем нужный ген, лигируем и встраиваем в бактерию.

Фантастика, не так ли?

А дальше «обманутая» бактерия прилежно работает, производя ферменты для научных целей, для диагностики и лечения болезней, энзимы для пищевой промышленности и многое другое, необходимое стране.

Допустим, соматотропин – гормон роста, жизненно востребованный при многих нарушениях в развитии организма. Всего лишь полвека назад лилипуты воспринимались как обыденное явление. Сейчас благодаря соматотропину их на всей планете не более 800.



Хромосомная ДНК (1) и плазмиды (2) в бактериальной клетке. С помощью плазмиды происходит встраивание синтетического гена в бактерию

Или глюкозооксидаза, которая входит в состав тест-полосок для глюкометра. Или моноклональные антитела – чрезвычайно перспективное направление в терапии онкологических заболеваний.

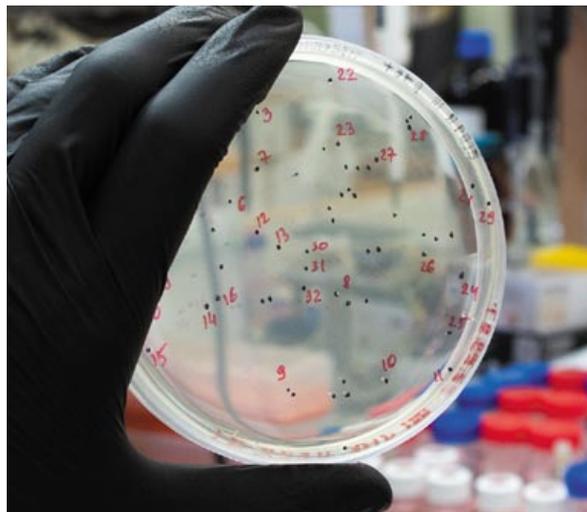
– Раньше гены всегда извлекались из тех организмов, в которых они есть, – уточняет Алексей Янцевич. – Эта техника начала развиваться еще в 1980-е годы и прекрасно работает до сих пор.

А если требуемый организм давно вымер или проживает на дне Марианской впадины? Если это опаснейшая болезнетворная бактерия, которую строго-настрого запрещено держать в лабораториях? Или же просто по каким-то причинам нужный объект сейчас не доступен?

«Мы научились переносить ген в бактерию и, грубо говоря, ее обманывать».

Именно такая история случилась, по словам Янцевича, в 2016-м или в 2017 году, когда нашим ученым срочно нужно было произвести фермент холестериноксидазу. Она окисляет холестерин и используется в медицинских экспресс-тестах. Мало того, одним своим присутствием внутри условно патогенной бактерии превращает безвредный микроорганизм в опасного врага, и для разработчиков лекарств в тот момент было важно понять, каким химическим веществом можно ее заблокировать.

– Одним словом, очень важный белок, – продолжает свой рассказ Алексей Янцевич. – Но у нас под рукой не было организма, из которого мы могли бы изъять нужный для его производства ген.



Вот так выглядят колонии бактерий с разными вариантами сборки синтетического гена

Выход один – синтезировать.

Конечно, можно было окольным путем завезти из Америки, как поступало большинство, но это же сколько денег и проблем! Да и надоело зависеть от внешних обстоятельств.

– Тогда казалось, что мы сделаем ген в два счета, – улыбается Янцевич.

Куда там! Пришлось изрядно попахать, и без поддержки со стороны государства все равно ничего не получилось бы. По признанию Алексея Викторовича, это была пресловутая каша из топора.

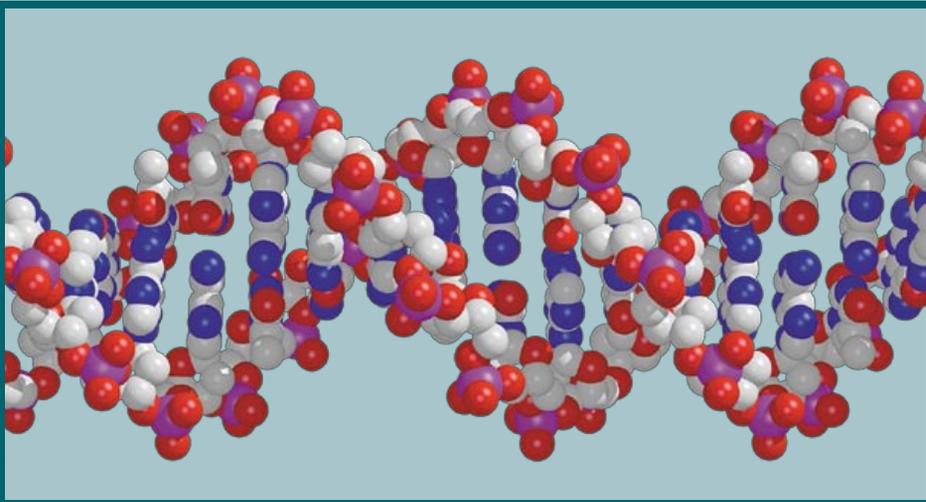
– У нас находился только очень-очень старый олигонуклеотидный синтезатор 1983 года, – усмехается он.

Это прибор, создающий кусочки, которые затем склеиваются в полноценный синтетический ген. Одним махом склепать двухцепочечный гигант длиной от 1500 до 2500 пар оснований наука пока не научилась, поэтому процесс начинается с малого.

– С последовательности, которую нам присылает заказчик или которую придумываем сами, – просвещает меня мой гид по лаборатории, научный сотрудник Вероника Щур. – Это последовательность букв А, Т, G, С, оформленная в виде текстового файла.

Четыре буквы – четыре типа нуклеотидов, кирпичиков, из которых создается ген. Звучит вроде бы

Так выглядит
двойная цепь ДНК.
Разноцветные шарики –
это атомы



просто, но потребовались годы усилий мировой и отечественной науки, чтобы расшифровать их последовательность в каждом гене, отвечающем за производство того или иного белка.

Специальная компьютерная программа анализирует заданную последовательность букв и разбивает ее на олигонуклеиды – те самые цепочки, которые будут создаваться в синтезаторе. Это называется «дизайн сборки».

«Тогда казалось, мы сделаем ген в два счета».

В зависимости от длины гена кусочков может быть разное количество, но непременно несколько десятков. А «старичок» 1983 года рождения даже после того, как его починили и хорошенько настроили, за один присест синтезировал лишь один олигонуклеотид, так что весь процесс растягивался даже не на недели – на месяцы.

Что делать? Обратились к руководству Академии наук, которое отнеслось с пониманием и закупило для лаборатории белковой инженерии современный олигосинтезатор. Синтез ускорился в 32 раза.

– Конечно, это была большая радость, – вспоминает Алексей Янцевич. – Нам уже не приходилось напряженно думать, как синтезировать такое

большое количество кусочков. Всего каких-то полдня – и у нас сразу 32 олигонуклеотида. Спасибо академии, спасибо государству!

Вероника Щур показала, как происходит таинство зачатия кусочков. Как внутрь колонок помещаются крохотные шарики, к которым прикрепляются растущие цепочки, как добавляется буква за буквой – в каждой колонке своя последовательность, и ее надо строжайше выдержать.

Дальше очистка, с которой поначалу тоже было немало проблем:

– Надо ли чистить каждый кусочек отдельно, или можно все вместе? – задается вопросом Алексей Викторович и сам же на него отвечает: – Мы пришли к тому, что можно делать совместную очистку всех кусочков для одного гена.

Затем необходимо отделить «агнцев» от «козлиц». Прошерстить сотни тысяч образовавшихся цепочек, выкинув слишком короткие и слишком длинные. Для этого у ученых есть свои уловки.

А дальше самый интересный и ответственный момент: при посредстве особого фермента кусочки объединяются в двухцепочечный ген. И опять очистка и проверка, отделение побочных продуктов. Хотя, в принципе, из образовавшихся синтонов (кусочков) можно создать целую библиотеку и отобрать из них тот, который работает лучше всего. И это тоже направление работы.

– Эволюция происходила миллионы лет, а мы могли бы организовать ее в пробирке, – улыбается Алексей Янцевич.

Пока же все усилия нацелены на то, чтобы отсечь гены с ошибками или, если хотите, с мутациями.

– Не дай бог, в синтезированном гене случится какой-то сбой, – продолжает ученый. – Тогда бактерия, в которую он встроен, не сможет производить нужный белок.

А даже если сможет, это удар по репутации. В нынешних условиях перепроверить ген для заказчика не такая уж сложная задача. Другое дело – исправить ошибки в генах. Это самый сложный процесс, требующий подлинной виртуозности и научного фанатизма. И здесь Вероника Щур – надежда и опора, хотя в науке она недавно.

Большинство сотрудников института пришло в науку по одному и тому же сценарию: толковый школьный учитель, победы на олимпиадах, поступление в университет (фактически без экзаменов), на третьем курсе практика в лаборатории генной инженерии... И молодой человек уже готов посвятить этому жизнь.

В синтезаторе олигонуклеотидов происходит волшебство синтеза кусочков будущего гена



Алексей Янцевич признается, что после школы колебался в выборе: биология, химия или медицина. Выбрал биологию...

– У нас в копилке около 50 синтезированных генов, – гордо заявляет Алексей. – Свой метод мы защитили патентом и публикациями в авторитетных журналах, в том числе американских.

Что дальше? Каковы перспективы? В чем видится жизнь этой идеи, помимо того, что гены, разработанные в лаборатории белковой инженерии, уже сегодня работают и создают продукт, необходимый для экономики и медицины?

«Эволюция происходила миллионы лет, а мы могли бы организовать ее в пробирке».

– Среди наших заказчиков «Альтимед Техно», создающий инновационные биотехнологические продукты, – конкретизирует Янцевич. – На иностранный рынок мы еще не выходили, хотя возможность такая есть.

Для этого, считает директор, необходимо нарастить масштабы. И лаборатория расширяется: в нескольких помещениях, примыкающих к ней, активно идет ремонт.

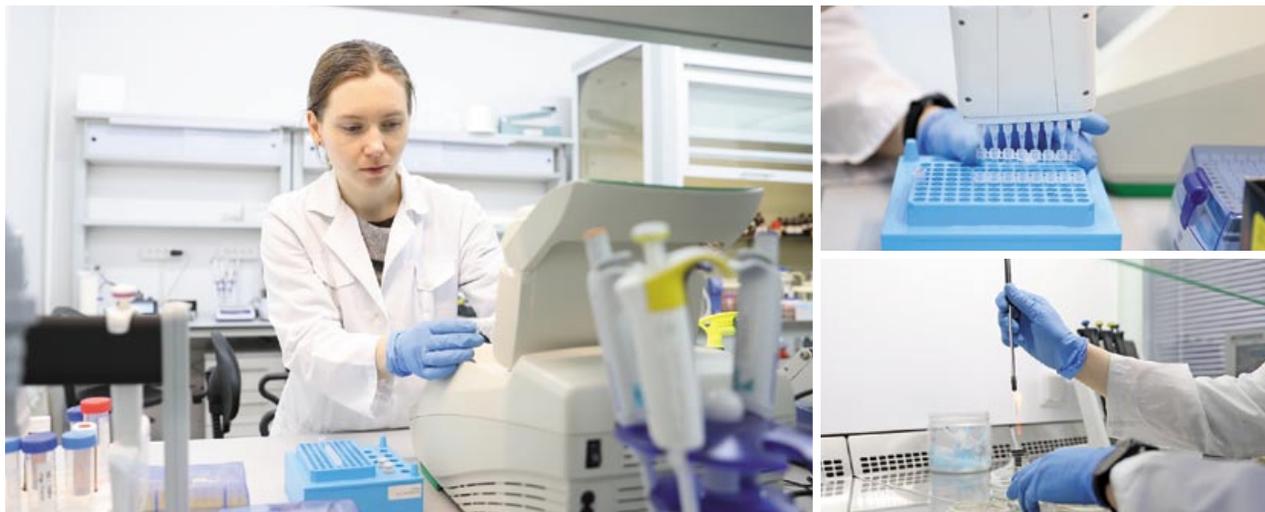
– Кроме того, из наших генов мы получаем белки – природные и их аналоги. Или, например, химерные белки, когда берется кусочек от одного белка, кусочек от второго, и в результате их функции объединяются, – рассказывает Вероника Щур.

Один из первых ферментов, которые получили в лаборатории с помощью собственноручно синтезированного гена, – это ДНК-полимераза, необходимая для всех этих чудес.

– Одно дело – производить гены, чтобы с ними работали другие, – подчеркивает Янцевич. – Но мы же должны реализовывать свой потенциал, работая с генами, которые сами синтезировали.

Самое очевидное применение синтетического гена – в лечении наследственных заболеваний.

– Синтез нужен, чтобы заменить неправильно функционирующий ген в организме ребенка или взрослого и излечить его от этой болезни, – разъясняет Сергей Усанов, но тут же оговаривается: – Это



Различные этапы синтеза и проверки гена

не задача сегодняшнего дня. Это перспектива на будущее.

Тем не менее подобные технологии уже продаются за бешеные деньги. Но какой ценой?

Их первооткрыватель Хэ Цзянькуй три года отсидел в китайской тюрьме лишь за то, что впервые в мире имплантировал в матку зародыш, подвергнутый геномному редактированию. Его цель состояла в том, чтобы не допустить заражения зачатых девочек ВИЧ, поскольку их отец оказался инфицированным. Близняшки Лулу и Нана благополучно родились 26 ноября 2018 года, и тогда же Хэ Цзянькуй объявил об успехе своего эксперимента, хотя точку в нем можно будет поставить лет через семьдесят. Сам ученый в журнальном интервью открыто заявил, что не знает, за какие еще функции в организме отвечает отредактированный им ген.

Желтая пресса немедленно окрестила его создателем генно-модифицированных детей.

– Осудили Хэ Цзянькуя прежде всего за то, что он делает то, чего мы пока не знаем, – комментирует доцент кафедры общественного здоровья и здравоохранения БелМАПО, руководитель Республиканского центра биоэтики кандидат философских наук Валерия Сокольчик. – И какой будет эффект, нам также неизвестно. Даже если соблюдены все требования информированного согласия, эти девочки превра-

щаются в подопытных существ, которые интересны с точки зрения медицинской науки, но вряд ли у них будет нормальная человеческая жизнь.

В частности, эксперт задается вопросом, можно ли этим девочкам рожать:

– Не появятся ли их дети на свет с уже исправленным геномом и не понесут ли эти изменения дальше? Запретить им рожать либо поместить в лабораторию и всю жизнь держать под контролем? Но тогда их потомство тоже должно стать лабораторными жителями?

Вопросы, на которые человечество пока не знает ответа.

– А сейчас Хэ Цзянькуй занялся спинально-мышечной атрофией, – продолжает Валерия Сокольчик, – и к его начинаниям мир отнесся очень и очень настороженно. Люди, страдающие таким серьезным заболеванием, согласятся на все ради призрачной надежды. В конечном счете это решение самого человека. Но допустимо ли оно с точки зрения общества? Не получится ли, что в результате экспериментального лечения люди умрут или приобретут дополнительный дефект?

Валерия Сокольчик убеждена: в экспериментах на бактериях возможно все. Но как только в них вовлекаются животные и особенно люди, необходимо семь раз отмерить и один раз отрезать.

Популярное направление, интересующее и наших ученых, – создание ДНК-вакцин, под воздействием которых человеческий организм вырабатывает белок патогена и тренирует иммунный ответ, в том числе на раковые клетки. А вот синтетические генные цепи, которые могли бы продуцировать драгоценные лекарственные алкалоиды, – задача на будущее, полагает Алексей Янцевич.

Тот же таксол – важнейший препарат для лечения злокачественных опухолей. Его добывают из коры тихоокеанского тиса, растущего на западном побережье США и Канады. Попытки химического синтеза пока не увенчались сколько-нибудь значимым результатом. Отсюда и заоблачная цена.

– А здесь его вырабатывала бы клетка дрожжей, которая делится каждые 20 минут, – мечтает Алексей Янцевич. – Добавил сахар – и получил столько таксола или другого подобного препарата, сколько тебе необходимо. Быстро и, главное, контролируемо, и не нужно для этого задействовать поля, агропрепараты и все остальное.

И, наконец, проект, которым лаборатория биологической инженерии занимается уже сейчас.

– Смысл заключается как раз в создании первых в Беларуси средств для генотерапии, – рассказывает Алексей Янцевич. – Взяли такое сложное заболевание, как ишемия нижних конечностей. В результате атеросклероза оно, как правило, приводит к ампутации. Задача терапии – создать новые кровеносные сосуды, по которым будет двигаться кровь, несущая кислород.

За создание новых сосудов в организме отвечают особые белки. Это, во-первых, ангиогенин, который, в частности, создает сосудистую сеть в тканях эмбриона и, попадая с материнским молоком в организм ребенка, стимулирует развитие и рост кровеносной системы. А во-вторых, эндотелиальный фактор роста сосудов, вырабатываемый клетками их внутренней поверхности.

Оба вещества очень непросто получить традиционными методами. Так, первооткрыватель ангиогенина Берт Велли, чтобы добыть один миллиграмм этого белка, переработал 2000 литров культуры злокачественной опухоли человека, что вошло в анналы мировой науки.

Современные генные технологии здесь как нельзя кстати. Тем более что оба фермента необходимо не только получить, но и приручить, чтобы они работали в необходимом для науки направлении.

– Мы взяли эти белки в разработку, синтезировали кодирующие их гены и создаем плазмидные конструкции, которые будут эти гены содержать, – продолжает Алексей Янцевич.

Работы поддержаны руководством Национальной академии наук Республики Беларусь и ведутся в сотрудничестве с Отделением медицинских наук.

– Исследования пока на начальном этапе, – говорит Василий Генрихович Богдан, академик-секретарь отделения, доктор медицинских наук, профессор, полковник медицинской службы. – Но к концу года, в крайнем случае, к началу следующего мы развернем их в полном масштабе.

«Мы же должны реализовывать свой потенциал, работая с генами, которые сами синтезировали».

Именно по линии подобных медицинских разработок и видится дальнейший прогресс генной инженерии в нашей стране. Несмотря на бурное развитие науки, здесь непаханое поле пока еще не решенных проблем, за которыми боль и страдания людей.

– Работаешь по накатанным рельсам, пока не сталкиваешься с проблемой, и она приводит к новым горизонтам. Главное – трудности не обходить, а пытаться преодолевать, ведь каждая из проблем – это новая задача, это движение вперед, – делится Алексей Янцевич.

Он оптимист и убежден: если трудишься, результат неизбежно будет, везение только ускоряет процесс. За шесть лет работы в направлении синтеза гена достигнуты впечатляющие успехи, но еще больше предстоит сделать.

Юлия АНДРЕЕВА

Фото Татьяны МАТУСЕВИЧ,

из архива Института биоорганической химии

■ Проект создан за счет средств целевого сбора на производство национального контента