

НОВОСТИ НАУКИ

СИНТЕТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ ВОССОЗДАЕТ НЕБОЛЬШИЕ ГЕНОМЫ

Люди не могут оставить природу в покое. Они строят огромные дамбы, выращивают арбузы без косточек и вскоре надеются изготавливать микробы. Исследователи от инженеров до молекулярных биологов разрабатывают новые способы "лепки" генома подобно тому, как гончар лепит глину. Такие попытки переделать бактериальную и вирусную ДНК во многом превосходят простое добавление или уничтожение одного-двух генов. Ученые уменьшают, растягивают и заново воссоздают хромосомы, закладывая основы зарождающейся области науки - синтетической биологии.

С помощью таких операций с геномом синтетические биологи рассчитывают узнать больше о том, как функционируют микроорганизмы и по возможности использовать их для создания сложных белков, а также избавиться от токсичных отходов или же осуществить другие, пока еще не поставленные задачи. В октябре 2005 года состоялась конференция "Геном, медицина и окружающая среда 2005", на которой обсуждались последние достижения в этой новой области науки. По мнению Ari Patrinos, руководителя по геномным исследованиям в Министерстве энергетики США, все это напоминает самые первые дни работы проекта "Генома человека".

По словам J. Craig Venter, директора Института Venter в Rockville, Maryland, на сегодняшний день данная область науки относится, скорее, больше к теории, до сих пор собрано слишком мало данных. С ним согласен Ari Patrinos, поскольку очень трудно сопоставить рекламную шумиху вокруг синтетической биологии с истинными результатами.

Последние результаты в этой области представил генетик Frederick Blattner, из Университета Wisconsin, Madison, который поэтапно "сжимал" геном *Escherichia coli*. Видоизмененная бактерия может принести огромную пользу в развитие генной инженерии.

Blattner начал "урезать" микробный геном после секвенирования геномов различных штаммов *Escherichia coli*. Хотя штаммы в среднем имели 3,7 миллионов оснований, каждый, в свою очередь, имел еще один миллион оснований, заблокированных в специфических для каждого штамма "островках" ДНК. Научная группа под руководством Blattner стала последовательно уничтожать эти генетические островки и другие мелкие участки ДНК один за другим, отслеживая, чтобы бактерии выживали, несмотря на эти потери. Такие "отсечения" выполняются при помощи естественного процесса гомологичной рекомбинации. Например, в бактерию вводят участок ДНК, содержащий последовательности с обеих сторон островка. Небольшое количество микробов затем заменяет похожий участок ДНК на синтетический "безостровковый" вариант. Такой процесс "не оставляет следов", поскольку позади нет ни одного дополнительного участка ДНК.

На сегодняшний день группа Blattner выполнила 43 таких делеций, "вычистив" основной геном *Escherichia coli* до 4 миллионов оснований и 3500 генов. Это намного меньше по сравнению с 4444 генами, существующими в последовательности *E. coli*. Исследователи планируют уменьшить это количество, урезав еще 30 островков. По словам Blattner, к тому времени большинство "несущественного материала" будет удалено.

Модернизированный бактериальной хромосомой штамм *E. coli.*, в 10 раз лучше поглощает новые гены, чем любой другой штамм, применяющийся в генетической инженерии. Hamilton Smith, молекулярный биолог из Института Venter, считает, что теперь Blattner может брать "урезанный" геном и добавлять в него гены, необходимые для разработки промышленных и фармацевтических путей. По словам Blattner, его новый штамм должен быть более устойчивым к определенным нежелательным генетическим изменениям, поскольку в нем отсутствуют ДНК-островки, "прыгающие" по всему геному, создавая тем самым мутации.

В противовес исследователям, урезающим микробные хромосомы, Drew Endy из Массачусетского института технологий (MIT), наоборот, "растягивает" хромосому. Инженер по образованию, Endy представляет собой наиболее значимую и противоречивую фигуру в области синтетической биологии. Помимо работы в MIT, он проводит ежегодный конкурс в области синтетической биологии с участием международных команд. Одним из наиболее интересных изобретений за последнее время стала бактериальная камера, в которой исследователи "начинают" бактерии генами, имеющими светочувствительные белки и другие компоненты, с целью создания изображения в культуральной среде.

На веб-сайте своей лаборатории Endy разместил виртуальную доску объявлений для новых идей, результатов и протоколов в области синтетической биологии. Каждый день на его страничку заходят 15000 посетителей. Некоторые из его коллег жалуются, что Endy занимается только саморекламой - он владеет собственной компанией, занимающейся синтетической биологией. Другие же ученые считают, что Endy способствует продвижению новой науки вперед. По мнению Patrinos, именно Endy вносит в область синтетической биологии хоть какую-то систему.

На геномной конференции Endy рассказал о необычной работе, проведенной его лабораторией, по изучению вируса T7, инфицирующего бактерии. Он занимался изучением генов в геноме T7, которые были полностью или частично встроены в другие гены (и поэтому делили некоторые участки ДНК), осложняя, тем самым, возможность предсказывать, как различные условия окружающей среды клетки-хозяина влияют на инфекцию и последующее включение вирусной ДНК в "хозяйский геном". Его модель рассматривала все гены как отдельные объекты, не принимая во внимание ситуации, когда происходит частичное перекрывание генов. Endy и его коллеги разделили перекрывающиеся гены, внедрив дополнительную копию так, чтобы оба перекрывавшихся ранее и теперь разделенных гена по-прежнему имели полный набор оснований.

Во избежание гибели вируса при манипуляции с его хромосомой, Endy и его коллеги добавили только 600 оснований к геному, насчитывавшему в самом начале эксперимента 40000 оснований, надеясь, что удаление перекрывающихся участков не повредит регуляции генов и не ослабит их функцию. Сконструированный вирус по-прежнему был способен поражать бактерии и реплицироваться. Таким образом, группа ученых под руководством Drew Endy продемонстрировала, что можно воссоздать геном без добавления отдельных генов. Теперь эта команда добавляет больше оснований в геном T7, изучая таким образом пределы такого метода "растяжки".

Воссоздание геномов различной длины - это лишь малая толика в осуществлении истинного потенциала синтетической биологии. По мнению Venter, необходимо развивать эту область во многих направлениях. Синтезирование новых хромосом, по-прежнему, остается нерешенной задачей. В этом направлении работает группа Smith. На протяжении последних нескольких лет они осуществляют нокаут отдельных генов в *Mycoplasma genitalium*, имеющей самый маленький известный геном свободно живущего организма. На сегодняшний день они идентифицировали около 100 из 500 генов, без которых *Mycoplasma genitalium* может существовать.

Основная цель ученых - идентифицировать необходимые последовательности микробов и затем посмотреть, могут ли они синтезировать и собирать такие же последовательности и использовать их для создания живого организма путем добавления искусственной хромосомы в клетку. По словам Smith, необходимо понять, как собрать воедино огромные участки ДНК. Ученые предлагают, используя живые клетки, соединить большие фрагменты ДНК в целую хромосому микоплазмы или поместить действующую восстановительную систему ДНК - такую, например, как у бактерий устойчивых к радиации - в пробирку для завершения эксперимента. Затем ученые должны определить, как поместить эту ДНК в клетку и удалить нативную ДНК, не повредив при этом способность клетки функционировать.

Этические и экологические вопросы также должны быть решены прежде, чем синтетическая биология окончательно оформится как область науки. Массачусетский институт технологий, Институт Venter, Центр стратегических и международных исследований в Вашингтоне объединяют усилия для изучения проблем поддержания новых форм жизни, созданных под контролем человека. Этот проект финансирует Alfred P. Sloan Foundation, который уже выделил 15-месячный грант в 570000 долларов на его развитие. Некоторые исследователи уже разрабатывают стратегии по использованию мер безопасности. Например, Church и Endy совершенствуют методы по предотвращению потери синтетических генов и возможного нанесения ущерба. Одно решение вопроса заключается в том, чтобы изменить синтетические генетические коды так, чтобы они стали несовместимы с естественными, поскольку тогда будет несовпадение в генетическом кодировании аминокислот.

И последний нерешенный для синтетической биологии вопрос - стоимость такого рода работ. Чем больше синтезируемый участок ДНК, тем менее точной оказывается последовательность и дороже процесс. Однако новые технологии уже стремительно развиваются. По словам Church, стоимость точного синтеза и секвенирования ДНК резко падает, и по мере его удешевления, можно будет наблюдать значительные изменения в теории и на практике.

НОВЫЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ В СИНТЕТИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ

Группа студентов из Швейцарии спроектировала первую в мире вычислительную машину, созданную исключительно из биологических частей.

Научная группа из Федерального института технологий (ETH) в Цюрихе - одна из 17 команд, представивших свои проекты на первом международном межуниверситетском конкурсе генетически сконструированных машин, прошедшем в Массачусетском институте технологий (MIT) в Кембридже (США) в ноябре 2005 года. Это событие привлекло внимание студентов всего мира, занимающихся дизайном и сборкой машин на основе биологических компонентов, таких как гены и белки. Они представили удивительные проекты: бактериальную игру Etch-a-Sketch, фоточувствительные футболки, термометры и сенсоры. И если ни один из проектов не оказался успешным "на 100%", это, скорее, произошло в силу определенных ограничений в зарождающейся науке синтетической биологии, чем из-за отсутствия энтузиазма, творческого подхода и прилагаемых усилий.

Основная цель синтетической биологии - объединить инженерию с биологией. Исследователи, работающие на самом простом уровне, копируют простые биологические процессы, например, производство белка, кодируемого определенным геном. Они разбивают весь процесс на составляющие части - ген,

участки ДНК и другие молекулы, контролирующие его активность. Затем они связывают эти элементы для создания модуля, который, по их мнению, будет вести себя как-то особенно - например, "раздумывать" производить или не производить белок, или производить белок, который способен "включать" и "выключать" другой (еще один) модуль.

Именно эти типы компонентов - генераторы (осцилляторы) и переключатели - инженеры заказывают у поставщиков и собирают воедино для создания более сложных электронных схем и машин. Ученые, работающие в области синтетической биологии, пытаются разработать похожий арсенал биологических компонентов, так называемый BioBricks, который можно внедрить в любую генетическую схему для выполнения определенных задач. Ученые из MIT основали Системный реестр стандартных биологических частей - каталог BioBricks, который теоретически можно заказать и подселить в клетку, так же как резисторы и транзисторы покупают и подключают к электросети.

Тем не менее, трудно найти квалифицированный персонал, заинтересованный и в биологии, и в генетической инженерии для дальнейшего продвижения этой новой науки. Как истинные инженеры, основатели синтетической биологии стараются сами воспитать своих будущих коллег. Для осуществления своих планов они решили возродить многовековую инженерную традицию: студенческие соревнования. Межуниверситетские соревнования (iGEM) начинались как своего рода проект для студентов MIT в 2003 году. Два года назад в этих состязаниях стали участвовать и другие университеты, а с 2005 года они считаются международными. Организаторы проекта надеются привлечь 30-50 команд в 2006 году, включая студентов из Азии.

Наподобие робототехнических соревнований, которые призваны развивать стремление студентов изобретать что-то новое, слеты iGEM еще больше подогревают любопытство участников - поощряя, тем самым, биологов учиться у инженеров и наоборот. По словам Randy Rettberg, организатора соревнований из MIT, если хочешь добиться успеха в этой области науки, нельзя просто склеить две клетки вместе, необходимо владеть определенными знаниями, и лучше проводить испытания своих проектов именно во время соревнований.

В прошлом году команды представили электротехнические изобретения. Студенты из Кембриджского университета (Великобритания) попытались создать схему, способную контролировать перемещения бактерий *Escherichia coli*. Их основной целью стало воссоздать бактерии, содержащие так называемый "переключатель", управляющий их чувствительностью к мальтозе. Если "переключатель" выключен, микробы проигнорируют этот дисахарид. С включением переключателя бактерии станут чувствительными к дисахариду и начнут двигаться ему навстречу. В конечном итоге, эта научная группа, как и все другие участники, не смогла закончить сборку генетических частей в срок.

Многие другие студенты также пытались разрешить проблему бактериальных взаимоотношений и передвижений. Команда из Пенсильванского государственного университета изобрела так называемую бактериальную эстафету, которая, как они надеялись, переведет синтетическую биологию в спортивную область - за это изобретение в конце соревнований они получили премию за "Лучший новый вид спорта".

Группа из Научно-исследовательского центра геномных технологий, Норман, Оклахома, попыталась использовать арабинозу в качестве двигателя для бактериальных передвижений. Группы из университетов Торонто и Калифорнии (Сан-Франциско) создали концепции для бактериальных термометров; группы из Гарварда, Торонто и Принстона создали бактериальные иллюстраторы и Etch-a-Sketches. Ученые из Колледжа Дэвидсона и MIT также широко использовали детектирование и зондирование. А лаборатория из Калифорнийского института технологий попыталась решить задачу при использовании изобретения 2004 года: так называемой биологической памяти.

Студенты из Техасского университета в Остине продемонстрировали первую в мире бактериальную фотосистему. Группа разработала фотопластинку *Escherichia coli*, которая реагировала на свет, и с тех пор с помощью этого изобретения делают различные фотографии, например, снимки своего руководителя Andrew Ellington.

Наряду с тем, что соревнования помогают студентам выстроить разграничения между дисциплинами, они, прежде всего, получают собственный, так называемый "опыт жизни в лаборатории". Почти все сталкиваются с проблемами при сборке частей в логически последовательные, связанные устройства. По-прежнему остается трудным вычленять различные генетические компоненты из схем, соединять их и применять в работе в живых клетках. По мнению Emanuel Nazareth из университета Торонто, все студенты усвоили одну прописную истину: никогда не хватает времени на сборку.

Это подразумевает еще одну, более крупную проблему в синтетической биологии. Ученые намерены создать "библиотеку" генетических частей, взаимозаменяемых в схеме с минимальными усилиями. Однако этот проект до сих пор существует только в теории, поскольку секвенирование ДНК и технологии сборки по-прежнему слишком дороги и сложны. По мнению Drew Endy из MIT, одного из основателей синтетической биологии и Реестра стандартных биологических частей, система производства не организована. Эти трудности необходимо преодолеть прежде, чем биологические компоненты можно будет также легко использовать, как и их инженерные аналоги.

Еще одним важным поучительным аспектом стало напоминание о том, что, несмотря на простые составляющие, биология может быть сложной и непредсказуемой наукой. Группа из университета Калифорнии (Беркли) пыталась создать совершенно новый способ общения между клетками. Это позволило бы клеткам посылать и получать информацию, формируя взаимосвязанные клеточные схемы, вместо простых генных схем, выстроенных в отдельных клетках.

Группа ученых надеялась применить естественный метод, использованный бактериями, для обмена генетической информацией, известный как конъюгация. В этом случае две бактерии соединяют свои клеточные стенки, используя структуру под названием "pilus". Ученым удалось вызвать конъюгационный ответ внутри синтетических схем. Однако бактерии настолько стремились к слиянию, что объединялись огромными группами, после чего их было очень трудно разделить.

Ученые, занимающиеся синтетической биологией, понимают, что придется сталкиваться с такими непредвиденными обстоятельствами. Однако пионеры этой области полагают, что остался ключевой вопрос, на который пока нет ответа: будет ли синтетическая биология действительно работать? По утверждению Rettberg, скептиков, действительно, много. По его мнению, существует большая проблема: можно ли создать простые биологические системы без взаимозаменяемых частей и заставить их работать в живых клетках? Rettberg считает, что можно, однако многие думают иначе и полагают, что биология настолько сложна, что человек не в состоянии этого сделать.

Принимая во внимание эти опасения, неудивительно, что исследователи решили вести дела настолько просто, насколько это возможно, поэтому они и организовали проект ЕТН. По словам Robin Kunzler, в начале проекта хотели "считать до бесконечности", а потом решили сначала "посчитать до двух".

Несмотря на суженные рамки проекта, студентам пришлось пройти настоящее испытание. Они разработали ряд устройств: первое принимает сигнал, который затем передается процессору. Процессор - генетическая схема - расщепляет сигнал на две составляющие. Третья схема осуществляет счёт и производит индикацию данных.

Для разработки и исполнения этого плана группа из Цюриха пригласила студентов-биологов, инженеров и специалистов по вычислительной технике. Вместе они успешно разработали и испытали этот биологический процессор.

Однако во время создания считывающего устройства возникли трудности: компания, производящая генетические секвенирования, не смогла предоставить их во время. Другие группы столкнулись с похожими проблемами. Ученые надеются, что стремительное увеличение фирм-поставщиков, включая Европу, поможет решить эту проблему, если не для соревнований 2006 года, то в самое ближайшее время.

Проект iGEM оказался полезным не только для студентов, но и для опытных специалистов. По мнению Endy, нам не известно, как создавать биологические системы. Нельзя научить тому, чего не знаешь сам, и студенты помогают нам во многом совершенствоваться. В конце концов, эта область науки совсем молодая и проблемы на пути становления неизбежны.

Тем не менее, план по подготовке будущих специалистов в области синтетической биологии полностью окупается. Несколько институтов-участников iGEM проводят занятия по этому предмету. По словам Gos Micklem, генетика из Кембрижского университета, этот проект оказался чрезвычайно интересным, и теперь его основная идея получит широкое распространение. Такие соревнования становятся своего рода стимулом для всех: от студентов до опытных специалистов.

По материалам журнала "Nature" при участии Рыженковой О.Н.