



художник С. Дергачев

Совместная биология

В конце прошлого года российское Федеральное агентство по науке и инновациям (Роснаука) и американский Фонд гражданских исследований и развития (АФГИР/CRDF) выделили совместные гранты на финансирование работ, в которых участвуют ученых обеих стран. Каждый отобранный проект должен получить в 2005—2006 годах до 1,6 млн. рублей со стороны Роснауки; финансирование АФГИР в размере до 30 тысяч долларов продлится до 2007 года. Цель программы — дать возможность российским ученым заниматься научными изысканиями в родной стране. Часть средств, которые предоставляет АФГИР, также обеспечит участие

американских исследовательских организаций. В рамках некоторых проектов запланированы поездки российских исследователей в американские лаборатории-партнеры.

Гранты получили проекты по физике, климатологии, безопасности химического производства. И конечно, в самых разных направлениях биологии, начиная от понимания общих закономерностей функционирования живых существ, до поиска конкретных методов борьбы с болезнями. Об одной работе, в которой ученые ищут средства от рака, мы писали в феврале 2006 года. Сегодня мы расскажем о некоторых других исследованиях.



На подходе к фотосинтезу

Когда-то, давным-давно, солнечный свет вода и углекислый газ сделали возможным появление той углеводородно-азотной формы жизни, которая каждый день радует глаз человека и насыщает его желудок. В основе преобразования света, H_2O и CO_2 в органическое вещество лежит фотосинтез. Нет-нет, мы не забыли про биоценозы черных курильщиков, где нет света, но вряд ли можно сказать, что эта жизнь доступна каждому для ежедневного наблюдения. И микроорганизмов, обитающих в темноте пещер, глубинах земли или нашего кишечника тоже не забыли. Однако, при всем уважении к ним, продукты фотосинтеза — какое-нибудь яблоко или свежеподжаренная булочка с молоком (как ни крути, а молоко — тоже продукт фотосинтеза, только переработанный коровой) — человеку кажутся много милее. Не случайно тайна фотосинтеза столетиями привлекает ученых, а люди, склонные к действиям практически, хотя бы, разгадав эту загадку, воспроизвести процесс искусственно.

Результаты работы российско-американской команды биохимиков из пушинского Института фундаментальной биологии РАН во главе с профессором В.В.Климовым и Принстонского университета во главе с доктором Чарльзом Дисмукесом, изучающих механизм фотосинтеза, вряд ли помогут построить прибор для получения сахара из солнечного света, зато наверняка знания, полученные ими, войдут в будущие учебники биологии.

В общих чертах реакция образования углеводов из углекислого газа в растениях, сопровождающаяся выделением в атмосферу свободного кислорода, знакома каждому школьнику: из CO_2 плюс H_2O получается глюкоза плюс O_2 . Но эта простота — кажущаяся. На бытовом уровне все как будто понятно — человек использует кислород и выдыхает CO_2 , а растения, наоборот, усваивают из воздуха CO_2 , а обратно в атмосферу выделяют кислород. Если же попытаться понять механизм процесса на молекулярном уровне, все оказывается куда как сложно, а местами вообще непонятно даже для специалистов.

Сравнительно недавно ученые из Пушина выяснили, что CO_2 — не только строительный материал для синтеза углеводов. У него, оказывается, есть еще одна, чрезвычайно важная роль — участие в процессе окисления воды, том самом, благодаря которому и получается свободный кислород. Без CO_2 встроенный во внутреннюю мембрану хлоропластов сложный комплекс белков и пигментов, так называемый водоокисляющий комплекс фотосистемы-2, работает плохо — не окисляет воду, а значит, и не выделяет кислород. Правда, участвует здесь, строго говоря, не сам углекислый газ, а бикарбонат-ион, который получается при растворении CO_2 в воде.

Несмотря на усилия многих научно-исследовательских лабораторий, механизм фотосинтетического окисления воды не до конца выяснен. Основная цель сотрудничества ученых из Пушина и Принстона — выяснить в деталях, как ионы бикарбоната участвуют в функционировании водоокисляющего комплекса фотосистемы-2.

«Взаимная выгода, которую мы ожидаем от сотрудничества, основана на комплементарности подходов, используемых в обеих группах. Иначе говоря, они удачно дополняют друг друга, — говорит В.В.Климов. — У принстонской группы большой опыт в неорганическом синтезе, в использовании физико-химических методов. В частности, у них есть ЭПР-спектрометр с огромными, ранее недостижимыми возможностями. А в нашей группе накоплен огромный опыт биохимической работы по выделению, очистке и изучению препаратов фотосистемы-2».

Ну а результаты такого сотрудничества нужны нам всем — в смысле, человечеству в целом. Не только для понимания молекулярного механизма фундаментального процесса, имеющего большое значение для биосферы, но и для того, чтобы найти причины устойчивости растений к неблагоприятным факторам, таким, как экстремальные температуры, ультрафиолетовое и ионизирующее излучение, детергенты: ведь система окисления воды — наиболее уязвимое звено фотосинтетического аппарата.

Знание — это сила, точнее, новые возможности. Вдруг мы все же научимся делать углеводы прямо из воздуха, ничем при этом окружающую среду не травмируя? Так и проблемы с бензином можно будет решить, и голодающих накормить. Фантазии? Или пусть не очень близкая, но реальность?

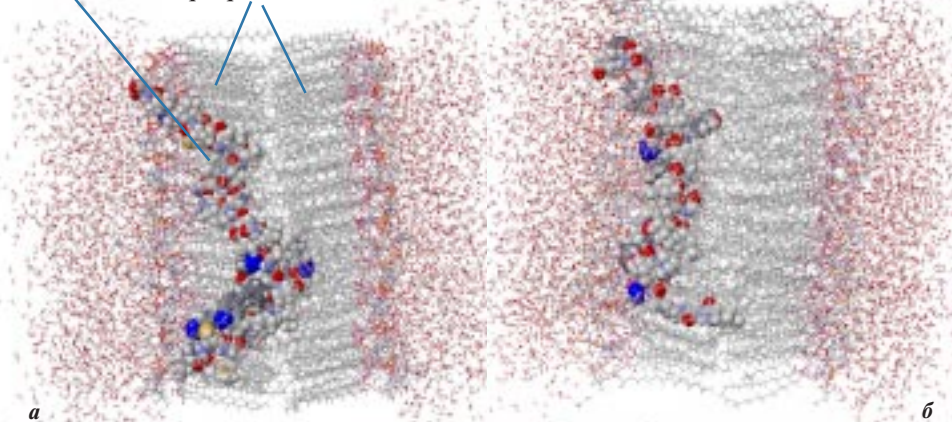
Загадки природы разгадывают математики

Совсем недавно главными орудиями биохимика были твердофазный пептидный синтезатор и аминокислотный анализатор. А ныне эти химические принадлежности потеснил компьютер: специалисты по биоинформатике создали настолько мощные программы для моделирования химических процессов и поведения сложных молекул, что большую часть реакций теперь можно проводить путем расчета. К реальному же эксперименту приступают тогда, когда все тупиковые направления отсеяны и перед глазами исследователя открывается прямой путь к заветной цели. Более того, благодаря фантастически выросшей за последние пятнадцать лет мощности компьютеров картинка на экране очень часто оказывается именно такой, какую ученый увидел бы, если б мог напрямую разглядывать реагирующие молекулы.

Именно такой подход применили ученые с биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова и из Канзасского университета. Они хотят снять «молекулярное» кино и увидеть своими глазами, как молекула лекарства встречается с мишенью в организме человека или, например, с вредоносной бактерией.

Проблема, которую исследуют биологи, физики и математики под руководством доктора физико-математических наук К.В.Шайтана и доктора Пола Эдварда Смита, действительно очень интересна. Почему и каким образом различные молекулы, в том числе и заряженные, попадают внутрь живой клетки, если этому противоречит, казалось бы, сама природа этих молекул? Как взаимодействуют биологически активные вещества, в том числе и лекарства, с окружающей

Пептид
Мембрана из слоев
фосфолипидов



а

б

В зависимости от последовательности аминокислот, пептиды по-разному погружаются в мембрану. Хотя на все атомы пептида (а) сила действовала равномерно, в мембрану вдавилась лишь его центральная часть: мешают заряженные головки второго слоя липидов. Дальше он пройти не сможет. Пептид (б) погружается почти равномерно и подобным же образом выходит из мембраны. Маленькие молекулы на рисунках — это вода, которая образует водное окружение мембраны

клетку мембраной? Будет ли проявлять активность, причем нужную, то или иное вещество?

Разумеется, в рамках одного проекта невозможно разработать молекулярные модели для всех лекарств и всех клеточных мембран. Поэтому авторы сознательно ограничили свой выбор. Из почти бесконечного разнообразия биологически активных соединений ученые остановились на сравнительно коротких, длиной до нескольких десятков аминокислотных остатков, пептидах, а в качестве модели клеточной мембраны использовали фосфолипидный бислой — потому что мембраны клеток состоят как раз из подобных структур.

«Взаимодействие пептидов с липидными мембранами проявляется во многих биологических процессах, — поясняет К.В.Шайтан. — Например, противомикробные пептиды (обычно электрически заряженные) присоединяются к мембранам микроорганизмов, повышают их проницаемость и тем самым убивают клетку. Другие пептиды уменьшают стабильность мембран, провоцируя их слияние. Третьи вообще малопонятным образом проникают внутрь клеток, преодолевая мембранный барьер. Таким образом экспериментально факт воздействия пептидов на мембраны клеток доказан, а вот механизм этого явления до сих пор окончательно не установлен».

Очевидно, что система пептид—вода—мембрана чрезвычайно сложна. Общий план действия коллектива ученых таков: сначала разработать модель липидного бислоя в водном окружении, затем изучить взаимодействие пептида и пептидных комплексов с поверхностью этой мембраны,

а потом выяснить, каким образом и под действием каких сил пептид может проникнуть внутрь. В результате авторы надеются научиться предсказывать, каким образом проникающая способность пептидов в липидные бислои зависит от аминокислотной последовательности и распределения зарядов вдоль нее.

Разумеется, критерием правильности модели будет практика — то есть физические величины, полученные для подобных систем уже не в компьютерном, а в лабораторном эксперименте. Оформить результаты авторы собираются в виде, конечно, таблиц, графиков (это уж как водится у ученых), но кроме того — в виде компьютерных фильмов.

Только персонажи этих фильмов — молекулы липидов, воды и пептида двигаться будут не по приказу режиссера-ученого, а сами по себе, в строгом соответствии с теми законами природы, знание которых использовали ученые при создании модели. И это их движение, будем надеяться, поможет понять механизмы взаимодействия различных веществ с клеточными мембранами, разгадать многие секреты в жизни клетки и создавать новые лекарства направленного действия. И не тратить время и силы на синтез десятков и сотен тысяч кандидатов в лекарства, из которых эффективными будут лишь единицы.

Химеры на компьютере

Другой метод из арсенала биоинформатики решили применить ученые из НИИ биомедицинской химии РАН им. В.Н.Ореховича во главе с кандидатом биологических наук А.В.Лиси-

цей и их коллеги из университета Вандербильда во главе с доктором Ларисой Подуст. Их цель — создание химерных белков семейства цитохромов P450.

Эти вещества есть в каждой клетке любого организма, и выполняют они чрезвычайно важную роль: именно при их участии происходит окисление поступающих в клетку веществ. Где окисление, там и избавление от ненужных, порой чужеродных, соединений. Такой работой как раз и заняты цитохромы семейства P450, которые расположены в мембране клетки. Например, у кролика они находятся в клетках печени и разлагают многие опасные вещества. А вот у возбудителя туберкулеза, палочки Коха, аналогичный цитохром разлагает только стероидные гормоны. Считается, что именно он был предком всего этого семейства ферментов, но при переходе в процессе эволюции от одноклеточных к многоклеточным организмам его строение усложнилось, а спектр действия — расширился.

С одной стороны, это хорошо, а с другой — не очень. Ведь биотехнологу гораздо приятнее иметь дело с одноклеточными бактериями, чем с многоклеточными кроликами: и размножаются бактерии быстро, и кормить их надо меньше, и защитники прав животных не одолевают. Поэтому возникает мысль: а вот бы создать белок, чтобы работал он так же, как у кролика, а синтезировать его могла бы трансгенная кишечная палочка. Тогда бы удалось получать много белка и использовать его, например, для испытаний новых лекарств: ведь это тоже чужеродные для организма соединения, и от того, быстро ли они разрушаются, во многом зависит эффект лечения. Прямо заставить микроб синтезировать фермент млекопитающего не удастся, поэтому ученые идут на хитрость: меняют в белке бактерии некоторые фрагменты на похожие фрагменты белка того же кролика и получают так называемый химерный белок. И главный вопрос: что на что надо менять?

«Примерно три года назад мы выдвинули гипотезу о том, что ведущую роль в структуре и организации цитохромов и их взаимодействии с вредными веществами играют мотивы, то есть определенные пространственные конфигурации отдельных фрагментов длинной молекулы, — говорит А.В.Лисица. — Именно их мы будем определять на первом этапе работы. Затем с помощью компьютера станем заменять одни мотивы на другие, и расчет трехмерных структур позволит отобрать такие химерные белки, которые примут нужную форму, а не останут-

ся после синтеза длинными, никому не нужными цепочками. Дальше к работе приступит нейрокомпьютер».

Это модное слово обозначает программу, построенную по принципу мозга человека, то есть состоящую из сети виртуальных нейронов. Такая сеть способна накапливать информацию и обучаться. На примере известных реакций цитохромов палочки Коха и клетки кролика сеть обучат, как надо связывать молекулу исходного фермента с различными веществами. А потом ей дадут задание найти вещества, с которыми лучше всего свяжется химерный белок. Работа будет считаться успешной, если удастся найти такие белки на основе цитохрома палочки Коха, которые станут вести себя так же, как фермент кролика. И уж затем начнется работа с живым материалом.

«Современные методы генетики позволяют достаточно легко создать трансгенный организм, который станет синтезировать белок нужного строения, — говорит А.В.Лисица. — Необходимые препараты сделают и передадут нам американские коллеги, а мы в России будем клонировать микроорганизмы, очищать выработанные ими белки и с помощью американских реагентов проверять их активность. Если все сложится удачно, химерные белки будут отправлены в университет Вандербильда, где их закристаллизуют, а затем проведут исследование структуры. В этих опытах будет участвовать один из наших студентов, который поедет в США для обучения методам белковой кристаллографии. Разработанную же в ходе работы статистическую модель можно будет использовать и для рационального построения других белков с новыми или улучшенными свойствами».

Охота на белок Каизо

Работать с химерным белком предполагают и ученые из Центра «Биоинженерия» РАН и университета Йешива. Цель у них иная — подобраться к терапии рака кишечника. Химерным же они хотят сделать один из ключевых белков, который отвечает за злокачественное перерождение клетки. Этот белок называется Каизо; он связывается с определенным метилированным участком ДНК и подавляет работу генов, которые должны сдерживать развитие рака.

Биохимики во главе с кандидатом биологических наук А.Г.Прохорчук и доктором Ари Мелником измерили уровень экспрессии гена белка Каизо в клетках опухолей кишечника у лабораторных мышей и таких же опухолей у людей. Он оказался в десятки раз

выше, чем в здоровых органах и тканях. Затем они получили мышей, у которых путем генетических манипуляций удалили ген, кодирующий белок Каизо (их назвали «Каизо-нулевыми» мышами). Внешне эти мыши не отличались от обычных, но исследование показало, что они устойчивы к раку. Такую же устойчивость к раку приобретали мыши, у которых другими методами подавляли метилирование ДНК.

Далее ученые скрестили Каизо-нулевых мышей с мышами, которые склонны к образованию полипов в кишечнике и поэтому служат моделью этого заболевания. Оказалось, что у потомства срок жизни в отсутствие гена Каизо увеличивается из-за замедления роста полипов в кишечнике. В дальнейшем биологи собираются работать на генетических линиях мышей, которые представляют собой модели разных типов рака. Скрестив с этими линиями Каизо-нулевых мышей, они будут оценивать устойчивость к раку и продолжительность жизни потомства.

Поскольку содержание белка Каизо в клетках большинства опухолей человека гораздо выше, чем в здоровых тканях, то его, возможно, удастся использовать для ранней диагностики рака. Современные молекулярные методы позволяют проанализировать экспрессию десятков генов в подозрительной ткани и сравнить полученную картину с генным портретом нормальных клеток. Конечно же

ПРОБЛЕМЫ И МЕТОДЫ НАУКИ

ген Каизо не единственный, который можно использовать для таких диагностик. Опухоль представляет собой очень неоднородную и весьма динамическую систему, и для ее характеристики требуется знание тысяч генов, входящих в генный портрет живого существа. Однако ген Каизо наряду с другими ключевыми генами (в составе минимального набора из десяти, быть может, тридцати генов) может послужить маркером и указать на характеристики опухоли. Это сэкономит и средства, и время, избавив от необходимости анализировать весь геном пациента.

Химерный же белок Каизо должен играть в клетках опухоли роль, прямо противоположную той, что играет обычный, то есть не подавлять, а усиливать работу генов-супрессоров рака. «Хотя здесь, — объясняет А.Г.Прохорчук, — скрываются подводные камни. Нужно заставить химерный Каизо действовать только во благо, то есть активировать только гены-супрессоры рака, но не остальные метилированные последовательности ДНК. Над этим мы сейчас и работаем в Центре «Биоинженерия» совместно с американскими коллегами». Международные контакты позволяют получить модельных «раковых» животных из американской лаборатории.

Справка

Американский Фонд гражданских исследований и развития (АФГИР/CRDF) был основан правительством США 11 августа 1995 года как частная благотворительная организация для поддержки ученых и инженеров в государствах бывшего СССР. Фонд ставит своей задачей привлечение исследователей из бывшего Советского Союза к участию в совместных с американскими коллегами проектах, а финансируют его деятельность как правительственные, так и частные источники.

Федеральное агентство по науке и инновациям (Роснаука) основано 16 июня 2004 года и занимается реализацией государственной политики в сфере научной, научно-технической и инновационной деятельности. В частности, агентство в установленном порядке проводит конкурсы и заключает государственные контракты, организует разработку прогнозов развития научной, научно-технической и инновационной сферы, рынков наукоемкой продукции и услуг, экспертизу и подготовку заключений по проектам федеральных целевых программ, ведет единый реестр результатов открытых научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ, выполняемых за счет средств федерального бюджета.

