

ВИРУС НА СЛУЖБЕ
БИОТЕХНОЛОГИИ



— Фрэнсис Арнольд



— Джордж Смит

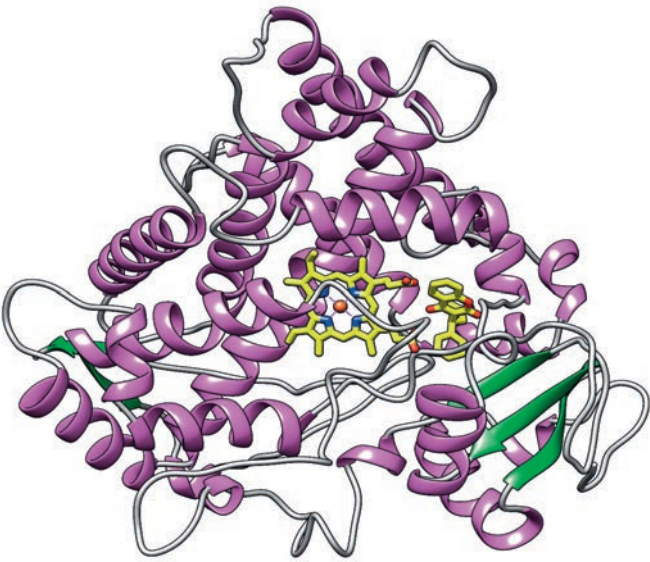
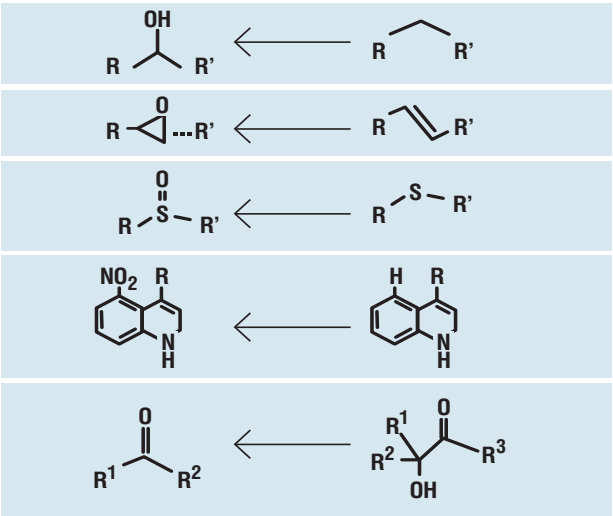


— Грегори Винтер

НОБЕЛЕВСКАЯ ПРЕМИЯ ПО ХИМИИ В ЭТОМ ГОДУ ПРИСУЖДЕНА ФРЭНСИС АРНОЛЬД ИЗ США — ЗА РАБОТЫ ПО НАПРАВЛЕННОЙ ЭВОЛЮЦИИ ФЕРМЕНТОВ, А ТАКЖЕ ДЖОРДЖУ СМИТУ (США) И ГРЕГОРИ ВИНТЕРУ (ВЕЛИКОБРИТАНИЯ) — ЗА СОЗДАНИЕ МЕТОДА ФАГОВОГО ДИСПЛЕЯ ПЕПТИДОВ И АНТИТЕЛ.

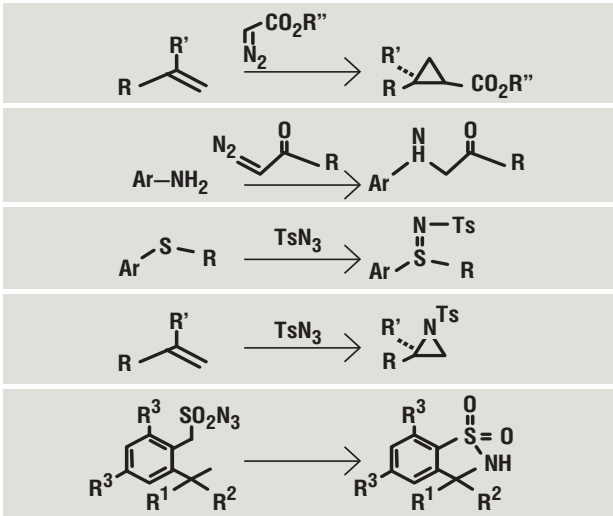
ИННОВАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ С ПОМОЩЬЮ НАПРАВЛЕННОЙ ЭВОЛЮЦИИ В ПРОБИРКЕ

ПРИРОДНЫЕ РЕАКЦИИ, КАТАЛИЗИРУЕМЫЕ
ЦИТОХРОМОМ P450S



ЦИТОХРОМ P450S

НЕ ВСТРЕЧАЮЩИЕСЯ В ПРИРОДЕ РЕАКЦИИ,
КАТАЛИЗИРУЕМЫЕ ФЕРМЕНТОМ,
ПОЛУЧЕННЫМ ИЗ ЦИТОХРОМА P450S



Сложно не согласиться с решением Королевской шведской академии наук: разработанные этими учеными методы внесли решающий вклад в рынок нового направления биотехнологии, химической промышленности и биомедицины. О чем речь?

Долгое время методология генной инженерии противопоставлялась некоей эволюционной предопределенности и естественному отбору. Мы или брали какие-то биологически активные белки из природы, или были вынуждены пытаться просчитать лучший вариант биоинформатически, а затем, внося планируемые замены в белок методами генной инженерии, ожидать получения приемлемого результата. Оба этих процесса были малопродуктивными, а результаты таких усилий далеко не всегда находили применение в промышленности. Вместе с тем возрастал запрос на ферменты — природные катализаторы сложных процессов биосинтеза органических молекул, высокоспецифичные пептиды и антитела, эффективно взаимодействующие с целевыми молекулами. Подходом, который привел к успеху в обоих случаях, стало сочетание силы эволюции и точности генной инженерии.

В случае работ Арнольд сначала в структуру предполагаемого фермента вносятся расчетные мутации и проверяется его активность. Затем в ген фермента вносятся случайные мутации. Получившиеся таким образом белки снова проходят скрининг эффективности. Такой подход очень продуктивен, он позволяет отобрать новые варианты белков, отличающиеся высокой производительностью и способные работать в экстремальных средах — то есть именно такие, которые нужны для промышленности.

Разработка Смита и Винтера не менее изыщна. Биосинтез пептидов, наработка библиотек антител стали вполне рутинными процедурами. Отбор участвующих в белок-белковом узнавании молекул и отбраковка молекул, неудачных методологически, вполне освоены. Именно поэтому сначала научное сообщество с недоверием отнеслось к предложению включить в производственную цепочку еще один этап — вирусную презентацию. Уникальной находкой стало совмещение вируса (организма максимально компактного), но способного в определенных условиях к размножению и исследуемого пептида или антитела. Белок не способен к самовоспроизводству, и, отобрав одну нужную молекулу, ученые не смогли бы ее размножить, чтобы идентифицировать.

Идея метода состоит в том, что в геном вируса бактерии (бактериофаг или просто фаг) встраивается последовательность пептида или антитела, так что фаг начинает использовать его как белок своей оболочки. Таким образом образуется связка: ДНК, кодирующая ген белка или антитела, и пептид или антитело на поверхности вируса. На следующем этапе происходит стандартная процедура проверки на эффективность взаимодействия пептида или антитела с молекулой-мишенью, отбираются те фаги, которые сильнее всего взаимодействуют с целью. И тут появляется первое различие технологий — в реакции может участвовать смесь, целая библиотека фагов, кодирующих разные варианты пептидов/антител. Если бы мы работали с чистыми пептидами или антителами, их необходимо было бы проверять по отдельности — тысячи отдельных экспериментов. В этой системе, если в смеси присутствует хотя бы один из тысячи нужный нам вариант, мы сможем его выделить, размножить и идентифицировать, образно говоря, вытащить за ушко на солнышко (to display — выставлять напоказ). Фаг, который смог за счет наличия нашего пептида или антитела в оболочке связаться с целевой молекулой, на следующем этапе заражает бактериальную культуру, размножается и, бесконечно копируя свой геном, копирует и ДНК гена нашего пептида или антитела — дальше дело техники. Мы можем секвенировать размноженный таким образом геном «правильного» или антител вносятся случайные замены, что увеличивает спектр анализируемых вариантов.

Эта технология экономит десятилетия отбора и анализа библиотек пептидов и антител. Таким образом, проводится скрининг перспективных для биотехнологии и биомедицины последовательностей. Естественно, эта технология отбора может сочетаться с подходом направленной эволюции, когда в последовательности кандидатных пептидов или антител вносятся случайные замены, что увеличивает спектр анализируемых вариантов.

Нобелевские премии этого года ознаменовали наступление новой технологической эпохи, в основе производственных процессов в которой будет биотехнология. Биохимия, биомедицина, биотехнология перестают быть междисциплинарными областями исследований и становятся отраслями народного хозяйства.

АЛЕКСЕЙ ДЕЙКИН, кандидат биологических наук, Институт биологии гена РАН

Идея метода состоит в том, что в геном вируса бактерии (бактериофаг или просто фаг) встраивается последовательность пептида или антитела, так что фаг начинает использовать его как белок своей оболочки. Таким образом образуется связка: ДНК, кодирующая ген белка или антитела, и пептид или антитело на поверхности вируса