

Крупнейшая в мире биотехнологическая компания Monsanto заключила соглашение об использовании метода геномного редактирования CRISPR для создания продовольственных культур (New Scientist, дата обращения 23 сентября 2016 г.)

Разрешение на использование технологии, позволяющей точно и в один этап вносить изменения в гены, Monsanto получила у Института Броудов (Broad Institute) при Гарвардском университете (Harvard University) и MIT (Massachusetts Institute of Technology). Система геномного редактирования CRISPR-Cas9, основанная на природном механизме в некотором смысле иммунной реакции, с помощью которой бактерии защищаются от вирусов (бактериофагов) при повторной встрече с ними, будет использована для создания более плодovitых и более устойчивых к заболеваниям и засухе растений кукурузы и сои.

CRISPR позволяет удалять и замещать фрагменты ДНК точнее, чем остальные методы генетической модификации. Аббревиатура, давшая название методу, происходит от англоязычного обозначения коротких палиндромных повторов, регулярно расположенных группами (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats). Между этими повторами – участками ДНК — и располагаются генетические элементы, которые «по наводке» соответствующей им РНК узнает и разрушает фермент Cas9, производя тем самым геномное редактирование.

«Достижение большей продуктивности на меньшей площади с меньшими затратами – это крайне необходимая человечеству вещь, и геномное редактирование – еще один инструмент, который может ускорить движение к этой цели», — цитирует руководителя биотехнологического подразделения Monsanto Тома Адамса (Tom Adams) New Scientist.

Институт Броудов делится разработанными методами с академическими и некоммерческими организациями, но лицензии для коммерческих исследований предоставляет в ограниченном количестве. Неэксклюзивное соглашение с Monsanto – первый случай выдачи институтом лицензии для использования в области сельского хозяйства. Одним из сдерживающих факторов для лицензи-

рования в этой сфере является возможность применения генно-инженерных методов с целью создания стерильных семян, что вынуждало бы фермеров год за годом приобретать новые семена у производителя. По условиям соглашения, заключенного разработчиком с компанией, создание культур с такими семенами методом CRISPR недопустимо; ограничения предусмотрены и для модификации данным методом растений табака.

Организмы, прошедшие геномное редактирование методом CRISPR, не попадают под регуляторные правила американского минсельхоза (USDA), принятые для генетически модифицированных продуктов, поскольку ничего нового в их геноме при этом не привносится.

Ранее компания DuPont в партнерстве с Caribou Biosciences создала посредством технологии CRISPR устойчивую к засухе кукурузу с высоким содержанием крахмала.

Первые клинические испытания метода геномного редактирования CRISPR начнутся в Китае (Nature News, дата обращения 21 июля 2016 г.)

Китайские ученые станут первыми в мире, кто введет пациентам клетки, модифицированные методом CRISPR-Cas9. Группа под руководством онколога Лу Ю (Lu You) из Западно-Китайской больницы при Сычуаньском университете (Sichuan University's West China Hospital) в Чэнду осенью начнет испытания на больных раком, получив 6 июля одобрение этического комитета лечебного учреждения.

«Это поразительный шаг вперед», — сказал в комментарии Nature News американский клиницист-иммунолог из Университета Пенсильвании (University of Pennsylvania) Карл Джун (Carl June). Месяцем ранее предложенный им протокол клинического исследования с использованием системы CRISPR для редактирования клеток иммунной системы человека, направленных на борьбу с тремя видами рака, одобрил Консультативный комитет по рекомбинантной ДНК (Recombinant DNA Advisory Committee, RAC) при Национальных институтах здоровья (НИИ, США). Сейчас Джун ждет разрешения этических советов нескольких институтов – участников испытаний, а главное — разрешения FDA.

В Китае долго ждать «зеленого света» не пришлось, потому что, по словам доктора Лу, «Китай придает биомедицинским исследованиям первостепенное значение». В руководимое им клиническое испытание вовлечены пациенты с метастатическим немелкоклеточным раком легкого, которым не помогла ни химио-, ни лучевая терапия, ни какое-либо другое лечение. «Возможности лечения очень ограничены, а этот метод является многообещающим для онкологических больных, с которыми мы имеем дело ежедневно», — говорит Лу.

Предполагается выделить Т-лимфоциты из крови пациентов — участников испытания и посредством системы CRISPR-Cas9, которая точно направленно разрезает последовательность ДНК в определенном месте, и инактивировать в этих клетках ген белка PD-1. Он относится к иммуноглобулинам и в норме контролирует иммунный ответ. Таким образом ученые намерены предупредить атаку модифицированных лимфоцитов на здоровые клетки. Отредактированные Т-лимфоциты размножат в лаборатории и вернут в кровяное русло пациентов, которые во время испытаний будут также получать в разных дозах препарат химиотерапии — циклофосфамид. Модифицированные клетки иммунной системы, циркулируя в кровотоке, в конце концов попадут к раковым клеткам. Во избежание попадания в организм лимфоцитов с ошибочно отредактированным геном клетки пройдут предварительную проверку в находящейся в Чэнду биотехнологической компании MedGenCell.

В этой фазе клинических испытаний объектом исследования будет не эффективность терапии, а безопасность применения CRISPR-отредактированных клеток иммунной системы.

GSK и Google займутся разработкой «биоэлектрических» лекарств (пресс-релиз GSK, дата обращения 1 августа 2016 г.)

Британская компания GlaxoSmithKline (GSK) и американская Verily (бывшее биомедицинское подразделение Google Life Sciences, ныне самостоятельная компания в холдинге Alphabet) объявили о создании совместного предприятия, которое займется разработкой и продажей «биоэлектрических» лекарств от хронических заболеваний. Доля участия GSK в акционерном капитале новой компании Galvani Bioelectronics составит 55%, а Verily — 45%.

Штаб-квартира Galvani Bioelectronics расположится в Великобритании. В течение семи лет

компания потратят на совместное предприятие 540 млн. фунтов стерлингов. Это максимальная сумма, которая будет выплачена при условии успешности результатов исследований.

Под «биоэлектрическими» лекарствами понимаются миниатюрные имплантируемые устройства, которые могут менять электрические импульсы, передаваемые по нервным волокнам, в том числе нерегулярные или искаженные, возникающие при многих заболеваниях. GSK занималась этой темой с 2012 г. и считает, что с помощью миниустройств можно вылечить определенные хронические заболевания, такие как артрит, диабет и астма.

Новая компания сможет воспользоваться опытом GSK в разработке лекарств и исследованиях биологических основ различных заболеваний, а также знаниями Verily в создании малогабаритной маломощной электроники, анализе данных, разработке устройств и программного обеспечения для здравоохранения.

Совместное предприятие займется пилотными клиническими исследованиями устройств для лечения воспалительных, эндокринных заболеваний и нарушений обмена веществ.

Фотоактивированные клетки сердечной мышцы крысы обеспечили движение ската-робота (Science 08 July, 2016: Vol. 353, Issue 6295, pp. 158—162)

Исследования в области бионики сокращающихся клеток сердечной мышцы имеют целью воссоздание органа, который будет функционировать, как живое сердце. Подходы к этому отрабатываются на моделях «синтетических животных», и вслед за роботом-медузой биоинженеры создали робота-ската. Скаты и им подобные морские существа имеют плоские тела с длинными плавниками. Эти плавники обеспечивают энергетически эффективное волнообразное движение всего тела спереди назад, благодаря чему оно легко скользит в воде.

Эффективность и маневренность ската попытались воспроизвести биоинженеры из Гарвардского университета (Harvard University) под руководством Кита Паркера (Kit Parker). По словам ученого, которые приводит портал Live Science, «биение плавников ската напоминает биение сердца, что навело на мысль использовать для экспериментов клетки сердечной мышцы крысы».

Биоинженеры начали работу со скелетов, которые имитировали форму скелета ската, а сделаны были из золотой проволоки (золото было

выбрано как химически инертный металл). Скелеты покрывали тонким слоем эластичного полимера и более толстым слоем силиконового каучука. Помещенные в верхнюю часть робота клетки сердечной мышцы крысы при стимуляции сокращались, натягивая плавники книзу. Форма скелета позволяла сохранять часть энергии, использованной для движения плавников вниз, и высвобождать ее при расслаблении клеток робота, когда плавники поднимались вверх.

Клетки сердечной мышцы крысы для робота были получены в результате генно-инженерных манипуляций, придавших им чувствительность к свету. Световые импульсы, подаваемые экспериментаторами, направляли ската-робота вправо или влево, а изменение длины волны света использовалось для управления скоростью движения искусственного создания.

Робот под контролем ученых мог преодолевать простые препятствия и проходил в воде 25 см со скоростью 1,5 мм/с. Неся на себе около 200 тыс сердечно-мышечных клеток, в длину робот-скат составлял 1,6 см, а весил всего 10 г. Плавал робот в жидкости, насыщенной сахаром, который служил ему своего рода топливом, подпитывающим клетки мышцы.

«Он живой, но он не организм – он не может реплицироваться, он неспособен к репродукции», — пояснил Live Science Паркер. Его группа создавала скатов-роботов сериями по пять-шесть штук, они «жили» около недели. «В конечном счете мы хотим создать целое сердце, и мы уже думаем о создании роботов по образцу других морских жизненных форм для того, чтобы еще попрактиковаться», — добавил он.

Генетически модифицированные комары снизили заболеваемость лихорадкой денге в отдельных бразильских штатах (пресс-релиз Oxitec, дата обращения 14 июля 2016 г.)

О первых свидетельствах спада заболеваемости острозаразной вирусной инфекцией в результате выпуска в окружающую среду генетически модифицированных комаров сообщает британская биотехнологическая компания Oxitec.

В бразильском городе Пирасикаба, где применяли обычные методы контроля численности кровососущих насекомых, случаи поражения вирусом денге сократились на 52 % с середины 2015 г. до середины 2016 г. Однако в окрестностях, где в качестве дополнительного средства были использованы генетически модифицированные комары вида *Aedes aegypti*, число случаев

лихорадки денге уменьшилось на 91 % — с 133% до 12%, сообщает пресс-релиз компании Oxitec.

Биотехнологи внесли в геном комаров ген «саморазрушения», унаследовав который новые поколения насекомого гибнут, не достигнув половозрелого возраста. Этот синтетический ген кодирует белок tTAV (Tetracycline Repressible Activator Variant), который связывается с регуляторной областью других генов и может служить их переключателем. При экспрессии гена tTAV у генетически модифицированных комаров нетоксичный белок связывается с клеточным аппаратом белкового синтеза, что приводит к тому, что другие гены не экспрессируются и насекомое погибает. Продуцируемые белки нетоксичны для насекомых, а потому, если другие животные съедят такого комара, они переварят его так же, как если бы съели генетически интактное насекомое.

Выпуск в окружающую среду партий модифицированных самцов, все еще способных спариваться с самками дикого вида *Aedes aegypti*, приводит к тому, что у новых поколений не бывает продолжения и в результате сокращаются популяции насекомых, способных переносить опасный вирус.

Ранее компания уже сообщала о результатах выпуска генетически модифицированных комаров в Бразилии: в каждом случае за шесть месяцев популяция сокращалась на 90%. Но сейчас речь идет о первом зарегистрированном снижении заболеваемости, которое стало следствием снижения численности кровососущих комариных самок.

Как отмечает портал Science News, новые данные о влиянии выпуска генно-инженерных комаров на заболеваемость хотя и не являются результатом полноценного эпидемиологического исследования, могут быть приняты во внимание при решении вопроса о выпуске генетически модифицированных комаров Oxitec на островах Флорида-Кис. Эту заявку рассматривает Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (FDA).

Генная терапия показала эффективность в лечении обменного заболевания, повреждающего печень, у модельных свиней (Science Translational Medicine 27 July, 2016, Vol. 8, Issue 349, pp. 349—399)

Исследователи из клиники Мэйо (Mayo Clinic) протестировали новый подход к коррекции метаболических нарушений без трансплантации целого органа. Речь идет об эксперимен-

тах на свиньях, страдающих врожденной тирозинемией I типа, обменным нарушением, которое вызвано дефицитом фермента фумарилацетатгидролазы из-за мутации по определенному гену. В настоящее время это заболевание у людей лечат диетой и медикаментозно, но на многих пациентов лекарство не действует, а кроме того, ничего не известно о безопасности длительного приема единственного на сегодняшний день используемого препарата. «Для лечения тирозинемии I типа, которая считается прогрессирующим заболеванием, есть только одно действенное средство – пересадка печени», — цитирует хирурга клиники Мэйо Рэймонда Хики (Raymond Hickey) Genetic Engineering and Biotechnology News. По его словам, применение описанного авторами нового подхода к лечению тирозинемии и других метаболических заболеваний позволит пациентам избежать трансплантации и спасет многие жизни.

Собственно генная терапия проводилась на выделенных печеночных клетках, т.е. *ex vivo*. В клетки вносили здоровый ген фумарилацетатгидролазы, и менее, чем через сутки, такие скорректированные клетки трансплантировались обратно в печень пациента, где они начинали производить необходимый для метаболизма тирозина фермент.

«Это лечение представляет собой новую форму клеточной трансплантации, при которой используются собственные клетки пациента, а потому она не требует введения в организм иммуносупрессоров, снижающих вероятность отторжения трансплантата, и, следовательно, можно избежать побочных эффектов подавляющих иммунитет препаратов», — поясняет хирург-трансплантолог из Мэйо Скотт Найберг (Scott Nyberg).

По данным авторов, генная терапия привела к улучшению состояния свиной с тирозинемией I типа и сохранила их печень в функциональном состоянии по меньшей мере на год. Лечение проводили под контролем ядерно-магнитно-резонансной томографии, благодаря чему исследователи могли, не проникая в орган, отслеживать распространение скорректированных клеток по печени. Клетки с «правильным» геном распространились и заселились по всей печени, что существенно улучшило ее метаболическую функцию. Наибольшую пользу такая терапия принесет детям с врожденными метаболическими дефектами, считает Хики. «Более одной пятой всех педиатрических пересадок печени проводится по показаниям обменных заболеваний», — добавляет он.

Поражая растение, вирус меняет его запах на более привлекательный для насекомых-опылителей: это открытие может найти применение в агрономии (PLoS Pathogens, дата обращения 11 августа 2016 г.)

Исследователи из Кембриджского университета (University of Cambridge) в Великобритании обнаружили, что вирус огуречной мозаики, влияя на экспрессию генов инфицируемого им томата, вызывает изменения в летучих веществах, которые выделяет растение. Более того, эти незначительные изменения запаха распознаются пчелами: как показали оранжерейные эксперименты с анализом воздуха вокруг каждого растения, помещенного в свой контейнер, шмели предпочитают здоровым растениям те, что поражены вирусом, а масс-спектрометрия показала изменения в составе выделений пораженных вирусом томатов.

По мнению авторов исследования, о котором сообщает журнал PLoS Pathogens, идентификация запахов, которые привлекают пчел, и их искусственное воспроизведение с помощью химических соединений поможет агрономам защитить или даже повысить урожай культур, опыляемых пчелами. «Пчелы опыляют три четверти съедобных культур в мире. В связи с быстрым уменьшением их численности ученые задумались над поиском путей для повышения эффективности опыления, чтобы увеличить урожайность культур», — приводит слова руководителя исследования, вирусолога из Кембриджского университета Джона Карра (John Carr) издание Genetic Engineering and Biotechnology News. «Установив химическую природу привлекательных для пчел соединений, можно повысить опыляемость, заманивая пчел к источнику необходимых им пыльцы и нектара с помощью этого запаха», — поясняет ученый.

Вирус огуречной мозаики, который обычно переносится тлей, а не пчелами, — один из главных патогенов растений томата. В результате вирусного поражения томатные кусты вырастают небольшими, что сказывается на урожае. Кроме того, у них невкусные плоды. Вирус огуречной мозаики вредоносен не только для сельскохозяйственных культур, он существует в популяциях диких растений, и авторы утверждают, что их исследование объясняет этот факт. «Мы были удивлены тем, что шмелям нравится запах растений, пораженных вирусом. Это казалось бессмысленным, потому что логично было бы думать, что опылители предпочтут здоровые

растения», — говорит доктор Карр. Однако проведенное авторами математическое моделирование предполагает, что если насекомые склонны посещать больные растения и в дикой природе, это подавляет естественный отбор на устойчивость к вирусному заболеванию. По словам Карра, «вирус таким образом вознаграждает восприимчивое к заболеванию растение и в то же время способствует появлению новых хозяев, которые он мог бы инфицировать, спасаясь от исчезновения». Это пример явления, которое называется симбиотическим мутуализмом, или взаимовыгодным симбиозом.

Специалисты в области синтетической биологии продемонстрировали возможность создания нового генетического кода (*Science* 19 Aug. 2016, Vol. 353, Issue 6301, pp. 819—822)

Известный молекулярный инженер и химик, профессор генетики медицинского факультета Гарвардского университета (Harvard Medical School) Джордж Черч (George Church) с коллегами создают *Escherichia coli* с несуществующим в природе геномом. Ученые заявляют, что если им удастся осуществить задуманное, произведя 62 тыс. изменений в исходной ДНК *E. coli*, это будет самым изощренным примером геномной инженерии из известных до сих пор, а бактерия с полностью переписанным геномом станет новой моделью для экспериментов и лабораторной фабрикой новых химических соединений. Возможности для этого обеспечивает избыточность природного генетического кода: для кодирования 20 аминокислот могут быть использованы 64 триплета, т.е. одну и ту же аминокислоту может кодировать не один кодон. Так, и кодон CCC, и кодон CCG кодируют аминокислоту пролин.

Черч с соавт. предположили, что избыточные, или «запасные», кодоны могут быть удалены без ущерба для клетки. Ранее соавтор Черча, биоинженер из Йельского университета (Yale University) Фаррен Айзакс (Farren Isaacs), показал на модели *E. coli* возможность полного удаления стоп-кодона, имеющегося в конце каждого гена.

В публикуемой сейчас работе авторы, используя специальный алгоритм, исключили семь из возможных 64 кодонов. По выражению аспиранта Черча Мэтью Ландона (Matthieu Landon), это число представлялось «хорошим балансом» между технически достижимым количеством изменений и числом замен, которое угрожало бы выживанию клетки. Семь «запасных» кодонов

были видоизменены на синонимические кодоны, которые стали кодировать четыре различные искусственные аминокислоты. Их вводили в геном кишечной палочки последовательно, по одному, чтобы убедиться в том, что изменения не летальны для клетки. В итоге перекодированный геном имел 62 214 кодонных замен в 3548 генах. В статье приводятся результаты оценки 55 из 87 сегментов генома, что охватывает 63% перекодированной ДНК кишечной палочки.

Британская фармацевтическая компания AstraZeneca поддержала молодую американскую биотехнологическую компанию (*Reuters*, дата обращения 10 августа 2016 г.)

Британская фармацевтическая компания AstraZeneca вложила дополнительные 140 млн. долл. в американскую биотехнологическую компанию Moderna Therapeutics. Общая сумма инвестиций в стартап из разных источников составляет порядка 1 млрд. долл.

Впервые AstraZeneca инвестировала в Moderna Therapeutics в 2013 г. AstraZeneca объявила, что с последним вкладом ее доля в компании выросла до 9%.

Moderna Therapeutics была создана в 2011 г. Она занимается разработкой технологии использования матричных РНК для борьбы с различными инфекциями, раком, заболеваниями сердца и почек. Пока Moderna находится на ранней стадии разработки препаратов. Компания проводит два клинических исследования I фазы вакцин от инфекционных заболеваний на основе технологии матричных РНК. В июле Moderna и AstraZeneca подали заявку на одобрение исследования I фазы препарата в качестве средства для лечения сосудистых заболеваний.

У Moderna также есть договоры о стратегическом партнерстве с Alexion Pharmaceuticals, Merck и Vertex Pharmaceuticals. Осенью 2013 г. Moderna получила грант на 25 млн. долл. от Агентства по перспективным оборонным научно-исследовательским разработкам США (DARPA).

Подразделение Biogen в 2017 г. станет отдельной компанией (*Fierce Biotech*, дата обращения 9 августа 2016 г.)

Биотехнологическая компания Biogen обнародовала детали своего плана по запуску в 2017 г. компании Bioverativ, которая займется производством препаратов для лечения заболеваний крови. Акции Bioverativ будут торговаться на бирже Nasdaq.

«Мы решили отделить наше растущее производство антигемофильных препаратов, потому что это целесообразно для сохранения позиций и ориентиров, – заявил генеральный директор Biogen Джордж Скангос (George Scangos). Общая выручка от коммерциализации антигемофильных препаратов элоктат (Eloctate) и алпроликс (Alprolix) во II квартале превысила 200 млн. долл. Последний был одобрен Европейской комиссией в качестве средства лечения гемофилии типа B; препарат будет продаваться в Европейском союзе через нашего партнера Sobi».

Bioverativ возглавит Джон Кокс (John Cox), прежде занимавший пост исполнительного вице-президента фармацевтических операций и технологий.

Для аналитиков решение создать самостоятельную компанию неожиданностью: предпола-

галось, что Biogen продаст подразделение антигемофильных средств. Новая компания должна продолжить исследования и разработки Biogen в области заболеваний крови. В частности, она планирует закончить разработку терапии, основанной на технологии последовательности аминокислот XTEN, чтобы та могла применяться в клинической практике, начиная с первой половины 2017 г.

Как сообщалось ранее, новая компания получит коммерческие права на элоктат и алпроликс в Северной Америке и на других континентах; исключение составят Европа, Северная Африка, Россия и несколько стран Ближнего Востока. Biogen останется производителем этих препаратов в течение трех-пяти лет.

*Материалы рубрики подготовлены
М.З. Аствацатурян*