

**Биоинженеры приспособили дрожжи для производства лекарств (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA, published online Apr. 2, 2018*)**

Генно-инженерный штамм пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* производит ненаркотическое противокашлевое средство – носкапин; этот алкалоид содержится в соке опийного мака. Ученые оснастили новый штамм дрожжей набором генов из разных организмов, воссоздав в нем таким образом весь путь биосинтеза природного опиата. «Эта технология изменит способ производства важных лекарств», – приводит *The Scientist* слова одного из создателей штамма, специалиста в области синтетической биологии из Стэнфордского университета (Stanford University) Кристины Смолке (Christina Smolke). «Обычно лекарства получают из природного мира, в основном из растений. Но молекулярная «линия сборки» у растений эволюционировала таким образом, чтобы оптимизировать жизнеспособность самого растения, а не обеспечивать людей ведрами нужных им природных соединений», – отмечает ученый. Для воссоздания пути биосинтеза носкапина авторы внесли 25 растительных, бактериальных, животных и шесть дрожжевых генов из других штаммов в штамм *Saccharomyces cerevisiae*. При этом они применили технологию генного редактирования CRISPR, которая изменила гены, кодирующие ферменты, таким образом, чтобы они могли работать эффективно в непривычной для них кислой среде дрожжевых клеток. Это повысило уровень производства носкапина дрожжами в 18 000 раз по сравнению с предшествующими опытами, в которых также были использованы разные генетические комбинации. В результате всего за несколько дней группе Смолке удалось получить значительное количество алкалоида.

Высокая продуктивность сконструированного штамма дрожжей означает, что со временем генно-инженерный метод можно будет оптимизировать до уровня коммерческого производства. Однако для этого потребуются стократное повышение достигнутой продуктивности, которого, по мнению Смолке, можно добиться изменением масштабов лабораторного оборудования.

Носкапин и ранее использовался как противокашлевое средство, однако процесс выделения препарата из опийного мака оставался на лабораторном уровне. В 1998 г. ученые из Университе-

та Эмори (Emory University) обнаружили у этого опиоидного алкалоида противораковый потенциал. С тех пор уже установлено, что носкапин уменьшает, а возможно, и предотвращает метастазирование при раке молочной и предстательной желез у мышей. «Мы больше не ограничены природными рамками, мы входим в эпоху, когда можно заимствовать у природы процессы производства, используя генную инженерию и создавая живые фабрики, вырабатывающие то, что нам нужно», – отмечает К. Смолке.

**Некоторые антибиотики наружного применения запускают в организме противовирусный ответ (*Nature Microbiology, published online Apr. 9, 2018*)**

Группа под руководством иммунолога Акико Ивасаки (Akiko Iwasaki) из Йельского университета (Yale University) сделала неожиданное открытие, изучая влияние бактерий на вирусные инфекции. Нанося неомидин, распространенный антибиотик местного применения, на вагинальную слизистую оболочку мышей до и после заражения герпесными и другими вирусами, ученые обнаружили, что лекарство обуславливает устойчивость к вирусам и, в частности, уменьшает герпесное поражение и симптомы вирусной инфекции. Изучая активность генов у грызунов, подвергшихся воздействию антибиотика, авторы обнаружили повышенную экспрессию генов, обычно стимулируемую интерферонами – белками, которые блокируют размножение вирусных частиц. Последующее исследование показало, что неомидин запускает в иммунных клетках мышей синтез рецептора, который реагирует на антибиотик так, будто это вирусная инфекция. Подобный противовирусный эффект неомидина у мышей наблюдали при заражении вирусами гриппа и Зика. Однако, несмотря на примечательность открытия, ученые пока не рекомендуют использовать антибиотики местного применения для лечения вирусных инфекций у людей. В то же время, они подчеркивают, что полученные результаты могут привести к созданию более эффективных противовирусных препаратов.

Влияние антибиотиков на вирусные инфекции у животных или в культурах клеток ранее изучалось другими исследовательскими группами с диаметрально противоположными результатами:

от резкого снижения до чрезвычайного повышения чувствительности клеток к вирусу в зависимости от антибиотика и инфекционного агента. В нынешнем исследовании, обнаружившем противогерпесный ответ, обусловленный неомицином, Ивасаки с коллегами сначала проверяли воздействие смеси антибиотиков и эффект снижения вирусного поражения обнаружили только у неомицина. «Это действительно очень важное исследование, потому что оно демонстрирует влияние лекарства непосредственно на клетки-хозяева вирусов», – отметила в комментарии изданию *The Scientist* биохимик из Монреальского университета (University of Montreal) Натали Гранво (Nathalie Grandvaux). «Совокупность данных разных исследований, посвященных воздействию антибиотиков на восприимчивость к вирусам – это напоминание о том, что антибиотики влияют не только на бактерии или микробиом в целом, но и на экспрессию генов. В зависимости от способа доставки лекарства, патогена и взаимодействия с микробиомом, это может положительно или отрицательно сказываться на иммунности», – отмечает другой эксперт, Пауло Верарди (Paulo Verardi) из Коннектикутского университета (University of Connecticut).

**Изменение в структуре фермента, расщепляющего пластик, сделало его более эффективным утилизатором (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA, published online Apr. 17, 2018*)**

Прорыв в прикладной энзимологии произвели исследователи американской Национальной лаборатории по изучению возобновляемой энергии (National Renewable Energy Laboratory) и их британские коллеги из Портсмутского университета (University of Portsmouth). Модифицированный учеными фермент расщепляет полиэтилентерефталат (PET), из которого делают пластиковые бутылки.

Бактерия *Ideonella sakaiensis* (штамм 201-F6), поддерживающая свое существование, питаясь пластиком, была открыта больше года назад в Японии на станции переработки пластиковых бутылок. Но процесс ферментации PET этой бактерией был длительным и не решал проблему утилизации отходов в промышленных масштабах.

Работая над выяснением кристаллической структуры недавно открытого фермента из класса гидролаз, обеспечивающего бактерии *Ideonella sakaiensis* способность к росту на пластике, ученые получили мутацию по двум аминокислотам, которые входят в активный центр данного

фермента. Для этого была использована программа OPTIMIZER, с помощью которой кодоны внутри клонируемого гена изменяли путем мутагенеза *in vitro* так, чтобы аминокислотная последовательность, кодируемая этим геном, оставалась прежней, а эффективность трансляции кодируемой мРНК при этом увеличивалась.

Мутантный фермент оказался на 20% эффективнее исходного, и это неожиданное открытие приближает человечество к решению проблемы загрязнения окружающей среды пластиковыми отходами, на природную биодegradацию которых нужны столетия. Авторы исследования обсуждают возможности ферментативного разрушения полиэтилентерефталата с помощью бактерии, которая всегда использовала только природные субстраты.

По последним данным, количество пластиковых отходов, в том числе полиэтилентерефталатных бутылок, достигло в мире восьми миллионов метрических тонн. Эксперты подсчитали, что к 2050 г. количество пластиковых отходов в океане по массе сравняется с обитающей в нем рыбой, и это представляет серьезную угрозу для дикой природы, особенно морской флоры и фауны.

Кроме более высокой скорости действия мутантного фермента в отношении полиэтилентерефталата по сравнению с исходной гидролазой, еще более важной его особенностью является способность разлагать другой тип пластика – полиэтиленфурандикарбоксилат, в котором он, по словам ученых, «буквально продельывает дырки». Полученные результаты ясно указывают на значительный потенциал мутантной гидролазы; активность этого фермента в перспективе может быть повышена, считают авторы.

**Ферменты помогли морским бактериям справиться с машинным маслом и дизельным топливом (*Biochem. Eng. J., Vol. 132, Apr. 15, 2018, p. 279–287*)**

Канадские микробиологи из Квебекского университета (Université du Québec) показали, как бактерии *Alcanivorax borkumensis*, обитающие в морской воде, утилизируют углеводороды, которые содержатся в нефти.

За последние годы микробиологи нашли несколько десятков микроорганизмов, способных очищать воду и почву от загрязнений нефтью и нефтепродуктами. Некоторые из них уже применяются для биологической очистки, но большинство еще плохо изучены. К таким микроорганизмам

относится непатогенная бактерия *Alcanivorax borkumensis*, которая обитает в морской воде и способна усваивать различные углеводороды. В незагрязненной воде ее не слишком много, но когда на поверхности образуется нефтяное пятно, данный микроорганизм размножается и синтезирует поверхностно-активное вещество, которое, по-видимому, либо образует с нефтью эмульсию и таким образом увеличивает площадь контакта углеводородов с водой, либо повышает их растворимость в водной фазе.

Путем секвенирования генома *A. borkumensis* микробиологи выяснили, что бактерия продуцирует больше десятка ферментов, которые способны расщеплять целый спектр углеводородов. Группа профессора Сатиндер Каур Брар (Satinder Kaur Brar) исследовала три из них – алкангидроксилазу, липазу и эстеразу. Эти ферменты способны разлагать эфиры и углеводороды с разной длиной цепи, в том числе разветвленные и ароматические. Ученые задались целью определить их эффективность при утилизации модельных веществ – машинного масла, гексадекана и смеси ароматических углеводородов, содержащихся в сырой нефти, а также самой сырой нефти. Их добавляли в качестве контаминантов в воду или в почву.

Экстракты ферментов, выделенных из клеток *A. borkumensis*, вносили в загрязненную воду или почву и оставляли на период от трех до семи дней. Оказалось, что ферменты, находящиеся в смеси в оптимальных концентрациях, за неделю расщепляли 74% гексадекана и 80% машинного масла, которые содержались в воде, а также «съедали» 88% нефти из почвы. За три дня смесь ферментов из *A. borkumensis* справилась с 65% смеси ароматических углеводородов.

В дальнейших исследованиях канадские ученые рассчитывают выяснить механизм расщепления углеводородов и проверить эффективность работы *A. borkumensis* в полевых условиях. В будущем ферменты этой бактерии можно будет использовать для действенной очистки нефтяных загрязнений, считают авторы.

**Разработана экологически чистая и дешевая технология получения биотоплива из отходов грибного производства (*Science Advances*, Vol. 4, no. 3, Mar. 23, 2018, p. 1–12)**

Инженеры Национального университета Сингапура (National University of Singapore, NUS) обнаружили штамм бактерии *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* TG57, способный преобразовывать целлюлозу в бутанол, компонент

биотоплива. Микроорганизмы были выделены из отходов грибного производства – отработанного грибного компоста. Процесс не требует генетической модификации бактерий и предварительной обработки сырья.

Из всех видов биотоплива биобутанол считается наиболее перспективной заменой бензина благодаря высокому энергетическому потенциалу. Однако препятствием для налаживания коммерческого производства горючего служат высокие расходы и сложность предварительной химической обработки исходного сырья. Кроме того, создание процесса связано с привлечением большого количества земельных, водных, энергетических и других ресурсов.

Бактерия *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* была обнаружена в 2015 г. доцентом кафедры гражданской и экологической инженерии факультета инженерии NUS Хе Жьянжонгом (He Jianzhong). Отработанный грибной компост, образующийся при выращивании грибов, обычно состоит из пшеничной соломы и древесной пыли. Чтобы получить уникальный штамм TG57, микроорганизмам в отходах предоставили возможность эволюционировать естественным путем в течение двух лет. После этого в смесь добавили целлюлозу, и бактерии переработали ее, произведя бутанол.

«Производство биотоплива из непищевого сырья может повысить устойчивость и значительно сократить затраты, – считает Хе Жьянжонг. – Это крупный прорыв в области метаболической инженерии, и он станет основополагающей вехой в устойчивом и экономичном производстве возобновляемого биотоплива и химических веществ», – приводит слова ученого портал Phys.org.

Предполагается, что данная технология может значительно удешевить производство биотоплива, получаемого из необработанных целлюлозных материалов (растительной биомассы, сельскохозяйственных, садоводческих и органических отходов), что будет способствовать удовлетворению растущего спроса на энергию без увеличения выбросов парниковых газов.

**Генная инженерия позволила значительно повысить продукцию противомаларийного средства растением (*Molecular Plant*, published online Apr. 24, 2018)**

Генетическая модификация полыни однолетней – природного источника артемизинина, основного компонента лекарств от малярии, привела к трехкратному увеличению уровня

биосинтеза ценного продукта листьями растения. Прежние попытки повышения выхода артемизинина путем генетической инженерии полыни *Artemisia annua* были неудачными. Сейчас ботаник Кэ-Сюань Тан (Kexuan Tang) из Шанхайского университета Джао Тонг (Shanghai Jiao Tong University) с коллегами, проанализировав весь геном растения, выявили три гена, играющие решающую роль в биосинтезе артемизинина. Генетическая модификация, направленная на повышение активности этих генов, увеличила максимальное содержание артемизинина в листьях с 1% от сухой массы до 3,2%.

По словам Тана, опасность заболеть малярией подстерегает около половины населения земного шара. «Наша стратегия, направленная на широкомасштабное производство артемизинина, соответствует увеличивающейся потребности в противомаларийном лекарстве и должна помочь справиться с этой глобальной проблемой здравоохранения», – говорит ученый. По данным Всемирной организации здравоохранения, в 2016 г. малярия поразила около 216 млн. человек в 91 стране и это привело к смерти 445 тыс. человек по всему миру.

Господствующим малярийным паразитом и причиной большей части смертей, связанных с малярией на африканском континенте, является *Plasmodium falciparum*. А комбинированная терапия на основе артемизинина остается лучшим из доступных методов лечения малярии, вызванной этим простейшим. Спасти жизни можно увеличением и стабилизацией снабжения людей артемизинином, которого не хватает из-за нерегулярных поставок, поясняет Тан.

«Это историческая статья по проблеме артемизинина», – считает эксперт Science News иммунолог из Дрексельского университета (Drexel University) в Филадельфии Ахил Вайдья (Akhil Vaidya). Артемизинин был открыт китайским химиком Ю-Ю Ту (Youyou Tu) в 1972 г. при исследовании тысячи средств традиционной китайской медицины. Открытие Ю-Ю Ту, уже спасшее миллионы жизней, в 2015 г. отмечено Нобелевской премией по физиологии и медицине. Фармацевтические компании используют для производства полусинтетического артемизинина генетически модифицированные дрожжи, но растительный артемизинин обходится дешевле. Сейчас в рамках полевых испытаний семена генетически модифицированной полыни отправили на Мадагаскар, где выращивается большая часть растений *Artemisia annua* в Африке. Помимо антималярий-

ной активности у артемизинина обнаружен также терапевтический эффект при некоторых видах рака, туберкулезе и диабете.

**Редактирование генов методом CRISPR может шоколадному дереву (*Front. Plant Sci., published online May 8, 2018*)**

О возможности создания дерева какао (*Theobroma cacao*) с повышенной устойчивостью к заболеваниям благодаря геному редактору CRISPR-Cas9 сообщили ученые Университета штата Пенсильвания (University of Penn State). Шоколадное дерево, растущее в тропиках, дает какао-бобы – сырье для шоколада. Бесперебойная продукция этих бобов очень важна для многомиллиардной шоколадной промышленности, экономики производящих какао стран и жизнеобеспечения миллионов малых хозяйств, выращивающих это растение.

Однако ежегодно глобальное производство какао-бобов снижается из-за нескольких заболеваний, поражающих от 20 до 30% невызревших стручков. «В западной Африке сильные вспышки грибковых болезней могут разрушить все какао-плоды на отдельной плантации», – отмечает руководитель исследования Эндрю Фистер (Andrew Fister), сотрудник факультета сельскохозяйственных наук Пенсильванского университета. В связи с вышесказанным, повышение сопротивляемости растения является приоритетной задачей ученых. «Однако создание устойчивых к болезням сортов осложнялось отсутствием генетического источника этой устойчивости и долгим временем генерации дерева какао», – поясняет Фистер. Недавно опубликованы результаты исследования, которые впервые демонстрируют применимость передового метода CRISPR к усовершенствованию дерева какао.

CRISPR представляет собой короткие палиндромные повторы последовательностей ДНК, расположенные группами, с которыми соединены гены ферментов Cas, способных разрезать молекулу нуклеиновой кислоты точно в том месте, на которое укажет еще один важный компонент системы, специально сконструированная РНК. В прежних работах в растении какао был выявлен ген *TcNPR3*, который подавляет реакцию на патоген. Ученые предположили, что нокаутирование этого гена с помощью системы CRISPR-Cas9 может повысить устойчивость к заболеваниям. Для проверки своей гипотезы они использовали модифицированный патоген *Agrobacterium*,

который лишен способности вызывать заболевание, и внесли его вместе с компонентами комплекса CRISPR-Cas9 в изолированные листья дерева какао. Последующий анализ листовой ткани показал, что подавляющий сопротивляемость растения ген отсутствует в 27% отредактированного материала. Когда какао инфицировали его естественным патогеном *Phytophthora tropicalis*, эффект был еще заметнее. В продолжение экспериментов авторы создали отредактированные методом CRISPR зародыши бобов какао, из которых они выращивают деревья с тем, чтобы проверить эффективность подхода на уровне целого растения.

**Биотехнология Алтайского края получила высокую оценку (информационный портал «Мой Бийск», дата обращения 24 апреля 2018 г.)**

Регионом, у которого есть ряд конкурентных преимуществ и ресурсов для развития биотехнологии, назвал Алтайский край директор по акселерации проектов в сфере агропромышленной биотехнологии Фонда «Сколково» Роман Куликов. Как отметили в региональном Минэкономразвития, эксперт уверен, что Алтайский край обладает значительными компетенциями в этих сферах, а с учетом создавшегося в России запроса на импортозамещающие технологии в сельском хозяйстве темп внедрения биотехнологии в агропромышленности сравним с прорывом в области ИТ.

В Алтайском крае регулярно проходят дискуссионные и экспертные форумы по биотехнологии, такие как Агропромышленный форум «Всероссийский день поля», Столыпинская конференция, Международный биотехнологический симпозиум «БиоАзия».

Алтайские вузы и НИИ разрабатывают пробиотики для растений и животных, биопестициды для растений, а сырьевая база биотехнологических производств может гарантированно опираться на богатые и разнообразные сельскохозяйственные и уникальные природные ресурсы Алтайского края. Условия для развития новых направлений созданы и в Алтайском биофармацевтическом кластере.

**Древесные алкогольные напитки создали в Японии (AFP, дата обращения 1 мая 2018 г.)**

Исследователи из Японского научно-исследовательского института лесного хозяйства и лесных товаров (Japan's Forestry and Forest Products Research Institute) разработали способ производства алкогольных напитков с ярко выраженным древесным вкусом. В отличие от выдерживаемых в древесных бочках алкогольных напитков, приготовление нового продукта предполагает, что дерево будет использоваться не только как сосуд, но и как сырье для его получения.

Для начала кору измельчают до однородной массы, а затем добавляют к ней дрожжи и ферменты. Субстанция не нагревается, чтобы сохранить специфический древесный вкус. Эксперименты проводили с корой кедра, березы и вишни.

Из четырех килограммов кедровой коры получили 3,8 л жидкости, содержащей около 15% алкоголя. По крепости напиток оказался сопоставим с традиционным для Японии sake. Разработчики надеются, что уже через три года «древесный алкоголь» может поступить в продажу.

*Материалы рубрики подготовлены  
М.З. Аствацатурян*