

ТРАНС

2017
*Будущее
медицины*

ФОРМ

ОФОРМ

РМ

ЕИ

РД

Ы

1

СПЕЦИАЛЬНЫЙ РЕПОРТАЖ

Перепрограммировав ДНК внутри болезнетворных микроорганизмов, можно превратить их в целебные лекарственные средства

Майкл Вальдхольц

ОБ АВТОРЕ

Майкл Вальдхольц (Michael Waldholz) — журналист, руководит коллективом репортеров, получивших в 1997 г. Пулитцеровскую премию за освещение проблемы СПИДа. Живет в Хадсоне, штат Нью-Йорк.



В течение нескольких месяцев небольшая группа добровольцев будет принимать внутрь миллиарды крошечных, жадно поглощающих токсины хитроумных «устройств», излечивающих пациентов, которые страдают редким, приводящим к инвалидности заболеванием. Эти «устройства» собраны не из обычных промышленных деталей — металлических, пластмассовых, керамических и т.д. Они представляют собой перестроенные микроорганизмы, бактерии, реконструированные с целью выполнения совершенно не свойственной им функции — лечения тяжело больных.

Исследователи из Кеймбриджа, штат Массачусетс, работающие над биотехнологическим стартапом в фирме *Synlogic*, будут лечить своих пациентов таблетками, содержащими миллиарды частиц *Escherichia coli*. В норме эти бактерии в избытке присутствуют в кишечнике млекопитающих, участвуя в процессе пищеварения; в редких случаях они вызывают инфекционные заболевания, но обычно вполне безвредны. *E. coli*, которые собираются использовать биотехнологи из Кеймбриджа, особенные: у них реконструирован специфический сегмент ДНК, в результате чего они превращаются в неутомимых пожирателей аммиака, скапливающегося в организме больных с нарушением метаболизма мочевины.

У пациентов, страдающих данным заболеванием, наблюдается дефицит одного из печеночных ферментов, что часто приводит к гибели новорожденных и инвалидности взрослых. Такие люди от рождения несут мутантный ген, кодирующий дефектный фермент, не способный

метаболизировать азот белковых продуктов — мяса, яиц, сыра и т.д. Нормальные ферменты превращают избыток азота в мочевины, которая выводится из организма с мочой. Но у носителей мутации азот аккумулируется, в результате уровень аммиака в крови повышается до токсичного с катастрофическими последствиями для мозга.

Бактерии, модифицированные по схеме *Synlogic*, активно поглощают избыток аммиака. В норме кишечные бактерии тоже поглощают аммиак в небольших количествах, используя содержащийся в нем азот для роста. Но в отличие от них генетически видоизмененные *E. coli* содержат в геноме добавочную цепочку из генов и контролирующих элементов, соединенных друг с другом наподобие

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ

- Регулируя работу искусственных генетических цепей, встроенных в бактериальную клетку, можно превратить ее в медицинский инструмент, который включается и выключается при определенных условиях.
- Генетическая цепь состоит из генов, кодирующих определенные белки, и переключателей — аналогов проводников, резисторов и конденсаторов в электрической цепи.
- Генетики модифицируют бактерии, оснащая их новыми генетическими цепями, так что они приобретают способность устранять генетические дефекты и тем самым излечивать больных раком, атаковать раковые опухоли изнутри и диагностировать заболевания на начальных стадиях.

КАК ЭТО РАБОТАЕТ

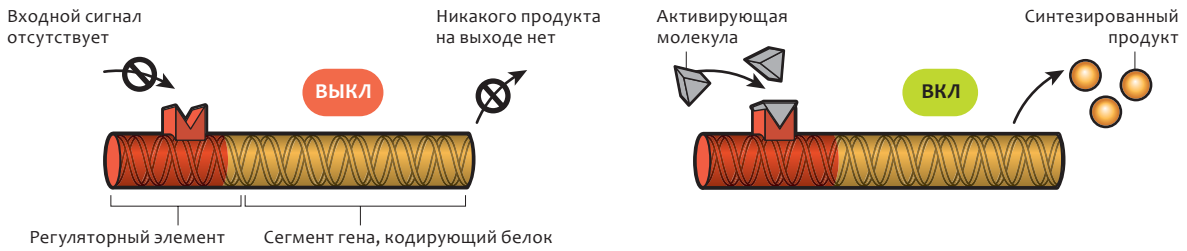
Живые цепи

Гены, а также сегменты ДНК, включающие и выключающие их, могут выполнять функции, заданные биологом-синтетиком. Такие генетические цепочки аналогичны электрическим цепям, на основе которых работают все электроприборы.

Генетически цепочки можно вводить в бактериальные клетки и контролировать их поведение. С помощью такого подхода биологи-синетики могут превращать микроорганизмы в живые терапевтические средства.

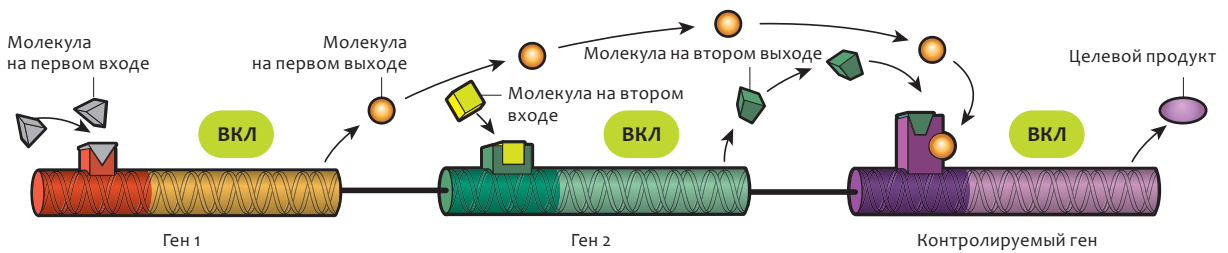
Простой переключатель

К гену (оранжевый), кодирующему тот или иной белок, примыкает регуляторный элемент (красный). В отсутствие входного сигнала ген молчит (не экспрессируется). Но если на вход поступает стимулирующий сигнал (присоединяется специфическая молекула; зеленый), ген активируется и начинается синтез кодируемого им продукта.



Более сложная цепь

Простой переключатель можно соединить с другими элементами, что позволяет контролировать поведение бактериальной клетки более тонким способом. Активированный ген 1 (оранжевый) посылает сигнал гену, работу которого исследователь хочет контролировать. Активированный ген 2 (зеленый) тоже посылает сигнал этому гену. Последний активируется только при наличии двух сигналов.



Создание бактерии, способной бороться с нарушением метаболизма мочевины

У больных, страдающих нарушением метаболизма мочевины, не хватает специфического фермента, в результате чего в организме образуется избыток аммиака. Биологи-синетики сконструировали бактерию *E. coli*, которая синтезирует в огромных количествах аминокислоту аргинин, используя в качестве источника азота аммиак. На схеме внизу ген (розовый), продукт которого препятствует образованию избытка аргинина, выключен. В геном бактерии встраивают электрическую цепь (зеленый), которая активируется под действием белка FNR (желтый). FNR работает только в условиях дефицита кислорода — именно это характерно для кишечника человека. Бактерия со встроенной генетической цепью становится машиной по выработке аргинина только при избытке аммиака и дефиците кислорода. Этот двойной контроль гарантирует, что она будет оставаться таковой, только находясь в кишечнике. Покинув его и выйдя в окружающую среду, богатую кислородом, бактерия переходит в свое обычное состояние.

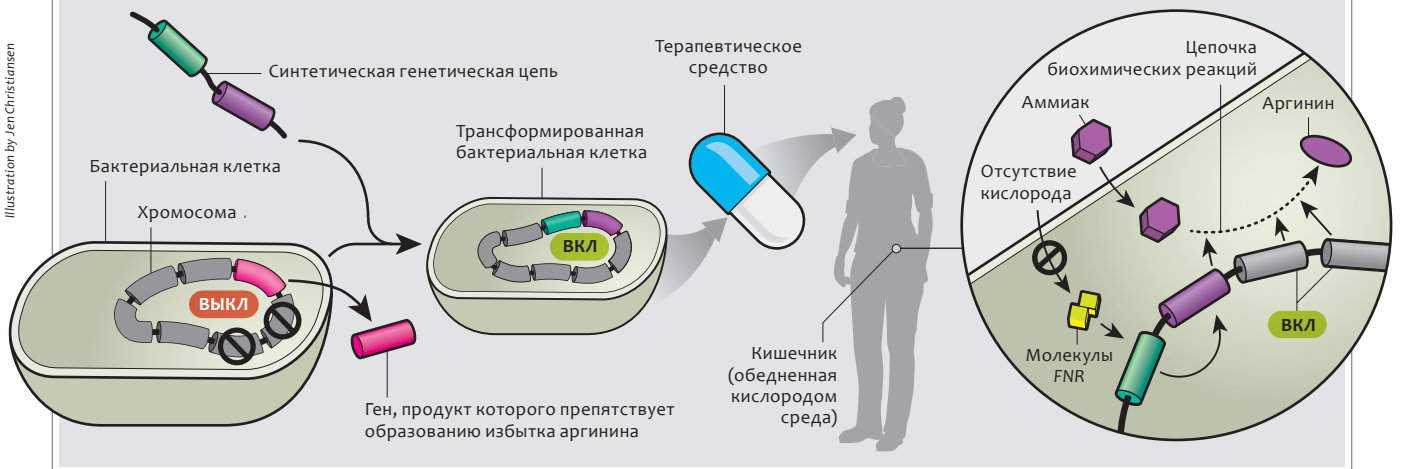


Illustration by Jen Christensen

регуляторов громкости звука, переключателей и тому подобных компонентов электрической цепи в каком-нибудь электронном устройстве. Встроенный в геном обычной *E. coli*, такой сегмент ДНК заменяет медленно усваивающий азот механизм суперактивной версии, прожорливым зверем, который просыпается, почуввав, что уровень кислорода в кишечнике падает ниже нормы.

Если генетически модифицированные бактерии будут вести себя в организме человека так же, как они это делают в опытах на мышах, то прием больными бактериального концентрата ежедневно в течение всей оставшейся жизни избавит их от опасного недуга и не будет никаких 100 новых пациентов с таким диагнозом, ежегодно появляющихся в одних только США. «Мы компенсировали отсутствующую физиологическую функцию, используя совершенно новый терапевтический подход, — говорит Пол Миллер (Paul Miller), возглавляющий научный отдел *Synlogic*. — Это сокрушительный удар по данному заболеванию». Вместе с сотрудниками он «сооружает» аналогичное устройство для борьбы с такими более обычными патологиями, как синдром раздраженного кишечника, воспалительные и иммунные заболевания и даже рак.

Трансформированные бактерии имеют одно неоспоримое преимущество перед обычными химиотерапевтическими препаратами: последними можно манипулировать, только изменяя дозу, аппетит же бактерий можно легко изменять с помощью встроенных регуляторов активности генов. Последние при необходимости можно даже просто выключить. Природная способность бактерий воспринимать изменения условий окружающей среды и реагировать на них

Беспрецедентная ответственность

Синтетическая биология открывает потрясающие возможности, но и таит в себе огромные риски

Кевин Эсвелт

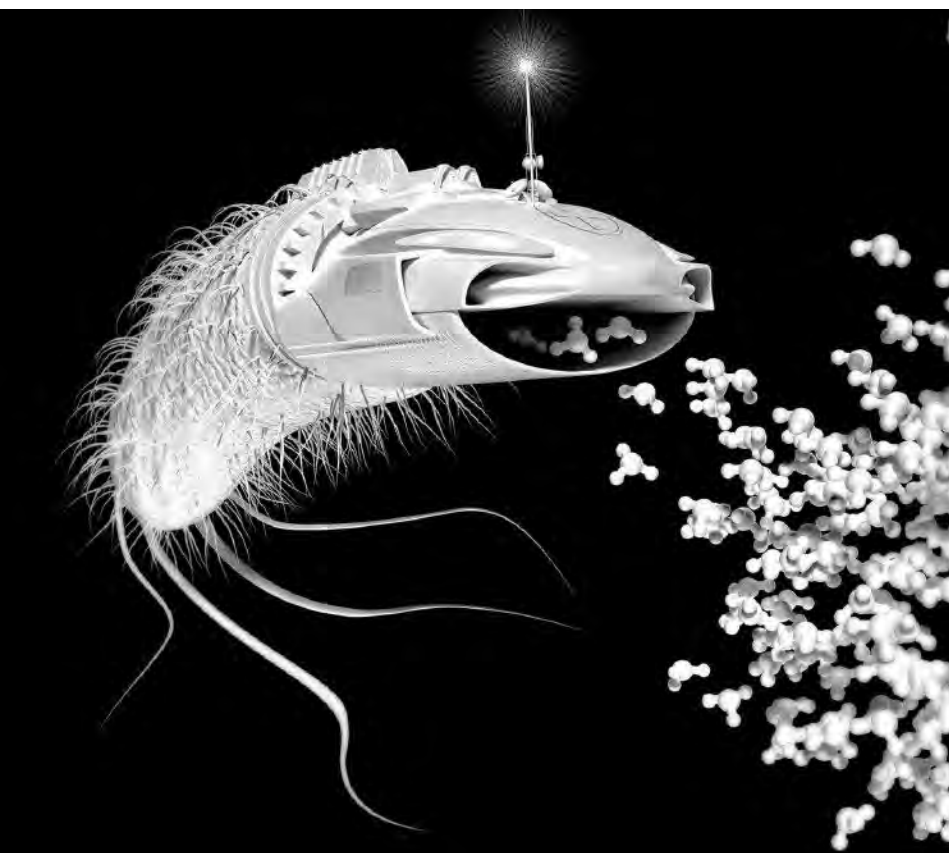
Дерзкая мечта биологов-синтетиков — мир, в котором все живое можно направленно реконструировать во благо всех и каждого. Чтобы осуществить эту мечту, нужно научиться перепрограммировать живые организмы по такой, например, схеме: «В условиях А следует поступать по плану В». Более конкретно — бактерия должна синтезировать белок, обладающий целебными свойствами, только при наличии симптомов конкретного заболевания.

Но почему нужно использовать живые системы, а не просто химические вещества во всем их многообразии? Потому что природные системы — это и есть такой огромный набор химических веществ, которому можно только позавидовать, и они функционируют при комнатной температуре или температуре нашего тела, не нуждаясь ни в каких дополнительных, порой токсичных, добавках или во внешнем воздействии. Более того, «живые фабрики» гораздо более эффективны, чем любое устройство из кремния и металла. Биофабрики работают быстро, не загрязняют окружающую среду и находятся в ней в гармонии. И еще один аргумент: человек и микроорганизмы — живые системы, а поломки в живом лучше всего устранять с помощью живого. Чтобы бороться с эволюционирующими патогенами, лучше всего использовать эволюционирующие подходы. Не приведет ли все это, однако, к печальным результатам? Заставляя организм работать на нас, мы используем энергию, которая могла быть потрачена на их репликацию. Не перестанут ли они размножаться и конкурировать друг с другом? Эволюция будет полностью отбирать быстро воспроизводящихся мутантов, а это вовсе не то, что мы хотели получить. Сильная сторона всего живого — способность к воспроизводству и изменению, но в этом же заключается и трудность работы с живыми организмами.

Проблему можно решить, ограничив их способности к изменению, в первую очередь в тех случаях, когда есть опасность, что видоизмененные организмы бесконтрольно распространятся по всему миру. Можно, например, использовать бактерию, растущую только при наличии в среде какой-нибудь необычной аминокислоты. В ее отсутствие соответствующий белок нефункционален, тем самым размножение бактерии находится под контролем. Еще лучше прибегнуть к эволюционным ограничениям: перепрограммировать микроорганизмы так, чтобы они разом высвобождали целевые молекулы и погибали, избегая таким образом эволюционного отбора. Клеточные процессы можно перестроить так, чтобы минимизировать побочные эффекты. Реконструированные фаги, инфицирующие определенные бактерии, будут размножаться в клетках проникших в организм патогенов до тех пор, пока те под их натиском не лопнут, при этом окружающие клетки не страдают.

Ко всему прочему мы должны быть уверены, что преимущества, получаемые в результате реконструкции, перевешивают возможные риски. Ошибки неизбежны. Можно сконструировать бактерию, синтезирующую, например, ванилин, и обойдется это недорого. Но будет ли такое ее свойство совместимо с окружающей средой? И так ли это нужно человеку? Недостаточно просто первым изобрести что-то необычное, нужно, чтобы его применение было целесообразно. В качестве положительного примера можно привести создание клеток, которые избирательно разрушают раковые клетки или помогают побороть диабет. Такие инновации бесспорно полезны.

Огромную опасность для человечества представляют пандемии инфекционных заболеваний. До сих пор избежать их не удалось, но мы



надеемся переломить ситуацию, используя плоды биотехнологии. Обычно организм человека противопоставляет проникшему в него патогену выработавшуюся в ходе эволюции защитную систему — целый набор антител, из которых хотя бы одно нейтрализует «оккупанта». Это способ из категории проб и ошибок, чтобы достичь успеха, нужно выждать. Вот почему, заболев гриппом, вы не излечиваетесь мгновенно. Большинству для выздоровления нужно три-четыре дня, но некоторые болеют тяжело и долго, а некоторые умирают. Хорошо бы подтолкнуть организм, так чтобы он начинал действовать без промедления. Для этого можно взять несколько генов, кодирующих несколько хорошо известных антител, заключить их в оболочку, не наносящую вреда организму, или ввести в вирусную частицу и инъецировать все это больному. Вирус проникает в свою клетку-хозяина, которая тут же начинает синтезировать оптимальный набор антител,

наиболее эффективных в отношении данного патогена.

И, наконец, мы, ученые, должны учитывать тот факт, что вмешательство в естественный ход вещей тревожит многих людей. Это означает, что нам необходимо принимать во внимание социальные риски. Мало ограничиться простым объяснением сути того, чем мы занимаемся. Необходимо рассказать, зачем это нужно, кто получит преимущества от наших исследований и чем мы рискуем. Кроме того, следует реагировать на все критические замечания, от кого бы они ни исходили. Как бы ни был велик наш опыт, мы не можем предвидеть все последствия своих экспериментов. Если уж мы решились на реконструкцию в мире живого, давайте решать, как это делать, все вместе.

Кевин Эсвелт (Kevin M. Esvelt) — биолог, руководит группой исследователей под названием *Sculpting Evolution* в Медиалаборатории Массачусетского технологического института.

позволяет программировать их так, чтобы они высвобождали терапевтическое средство только в нужном месте. Селективность их действия дает возможность избежать появления побочных эффектов, часто сопровождающих прием химиопрепаратов, которые распределяются по всему организму.

Находясь внутри тела человека, бактерии могут самопроизвольно видоизменяться, что не свойственно ни одному химическому препарату. Поэтому они должны проходить тесты на безопасность, а исследователи признают необходимость проверки их продукта на отсутствие нежелательного воздействия на среду, в которой они оказались. В этом году Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) США выдала разрешение *Synlogic* на пробное применение бактериальной терапии для лечения людей, поскольку один из штаммов *E. coli* уже давно назначают больным с синдромом раздраженного кишечника в качестве пробиотика. Если клинические испытания пройдут успешно, то продукт *Synlogic* станет первым детищем относительно нового направления генной инженерии — синтетической биологии.

Область науки, о которой мы говорим, опирается на манипуляции с ДНК, дающие исследователям новые инструменты для соединения друг с другом фрагментов ДНК и получения более значимых результатов, чем при внесении простых изменений в гены. «Синтетическая биология достигла впечатляющих успехов, — говорит Джеймс Коллинз (James Collins), профессор медицинской инженерии из Массачусетского технологического института, один из ведущих специалистов в данной области. Так, появилась возможность

вводить в клетки человека ДНК-цепи, обеспечивающие более точные по времени инъекции инсулина больным диабетом. А *Salmonella* — бактерию, вызывающую кишечные расстройства, — реконструировали так, что она может внедряться в опухоль и высвобождать там токсичные для нее вещества. Подход, основанный на применении ДНК-цепей, можно использовать и в диагностических целях: исследователи из Бостона недавно реконструировали некий микроорганизм так, чтобы он подавал сигнал о начале сепсиса у госпитализированного пациента. Существующим методам редко это удается — они замечают симптомы, только когда процесс зашел слишком далеко.

Новая технология способна изменить не только бактерии, но и саму медицину. «Биомедицина находится на переднем крае революционных процессов, происходящих в здравоохранении, — говорит Уэнделл Лим (Wendell Lim), директор Центра системной и генетической биологии при Калифорнийском университете в Сан-Франциско. — Микробы и клетки человека становятся универсальными терапевтическими инструментами». Но положение дел далеко не всегда было столь обнадеживающим.

Биоинженерия

Для того чтобы понять, как работают сложные механизмы, лежащие в основе всего живого, биологи в течение последних 40 лет использовали генную инженерию, манипулирующую генами. Но она не позволяла установить, как различные части сложной генетической машины подгоняются одна к другой и работают совместно. То, что удавалось получить в пробирке, обычно не соответствовало происходящему в живой клетке или целом организме. По словам Коллинза, когда синтетическая биология делала свои первые шаги, вокруг нее возникло множество спекуляций. Настоящая работа началась примерно 17 лет назад, когда Коллинз с коллегами, используя результаты секвенирования ДНК и возможность получать синтетические нуклеиновые кислоты, стали применять целевые гены и другие ДНК-элементы в качестве взаимозаменяемых компонентов для проектирования и создания биомедицинских инструментов, которые вели себя адекватно не только *in vitro*.

Новый этап в развитии синтетической биологии наступил с приходом в эту сферу ученых с инженерным мышлением. «В последние пять лет произошла конвергенция новых идей, которая стала движущей силой дальнейшего прогресса», — говорит Джефф Хэсти (Jeff Hasty), один из руководителей Института *BioCircuits* при Калифорнийском университете в Сан-Диего. Хэсти начал свою

научную карьеру 20 лет назад с получения докторской степени по физике. Он в шутку называл себя «гибридом компьютерщика и молекулярного биолога», но в этой шутке была большая доля правды. Сегодня синтетическая биология буквально наводнена такими людьми, как Хэсти, которые используют инженерные подходы в биологии.

«Аналогично инженерам-электрикам, которые при создании электрических цепей соединяют между собой проводники, катушки сопротивления и конденсаторы, мы, конструируя биологические цепи, предназначенные для выполнения определенных функций, используем биологические элементы — гены, белки, молекулы РНК, факторы транскрипции и многое другое», — говорит Коллинз.

Он отмечает, что электронные устройства служат ценными моделями, помогающими конструировать биологические цепи. Рассмотрим одно

Генетическая цепь, встроена в бактериальную клетку, инициирует синтез противоракового лекарственного вещества. Подхваченная током крови, бактерия направляется внутрь опухоли, где саморазрушается, высвобождая накопленный медицинский арсенал

из таких устройств — кондиционер. Датчик регистрирует превышение температурой воздуха заданного уровня — и тут же включается система охлаждения. Когда температура падает слишком низко, термостат выключает систему. Одноклеточные организмы, например бактерии, действуют подобным же образом: как только их сенсорная система улавливает появление микроорганизмов-конкурентов, бактерии отвечают секрецией антибиотиков.

В 2000 г. лаборатория Коллинза, располагавшаяся в то время в Бостонском университете, сообщила о создании генетического «тумблера». Статья об этом была опубликована в *Nature* в январе 2000 г. На эту и другую работу (выполненную группой исследователей из Принстонского университета и опубликованную в том же журнале) ссылаются как на начало синтетической биологии; в них впервые показано, что «мы можем брать разные части клеток и соединять их с образованием

новой биологической цепи, как это делают инженеры», — говорит Коллинз. Упоминание инженеров не было случайностью: Коллинз начинал свою карьеру в биоинженерной лаборатории, где конструировал механические конечности для инвалидов. Сегодня он работает конструктором в области синтетической биологии сразу в трех институтах в Кеймбридже. Его учениками были две дюжины аспирантов (Хэсти — один из них), ставших самостоятельными учеными.

За годы, прошедшие со времени создания первого примитивного ДНК-переключателя, образовалось сообщество специалистов в области синтетической биологии, члены которого конкурируют друг с другом в создании все более сложных биологических цепей, взяв на вооружение природную способность клеток отвечать на изменяющиеся внешние условия. «Чем дальше, тем больше мы понимаем, насколько высока приспособляемость живых клеток», — говорит Лим. Он рассматривает клетку как адаптируемое автомобильное шасси, на котором исследователь может размещать генетические элементы для решения тех или иных терапевтических задач.

Одно из первых коммерческих применений синтетической биологии датируется 2006 г. Его автором был коллектив ученых под руководством Джея Кислинга (Jay Keasling) из Калифорнийского университета в Беркли. Получив грант в \$42,6 млн от Фонда Билла и Мелинды Гейтс, исследователи реорганизовали метаболические пути обычных пекарных дрожжей таким образом, что они стали превращать молекулы сахаров в один из ключевых ингредиентов артемизинина, средства борьбы с малярией. Раньше предшественника данного вещества выделяли вручную из полыни однолетней, родина которой — Азия. Процесс был очень дорогостоящим, соответственно, дорогим был и получаемый лекарственный препарат; он был недоступен для беднейших стран, которые в нем больше других и нуждались. «Это был настоящий прорыв, — говорит Коллинз. — Впервые целая генетическая цепочка, а не один ген привела к трансформации микроорганизма — дрожжевой клетки, позволив решить очень важную для народов всего земного шара проблему».

Разомкнутые цепи

Но это событие не стало началом революции. Примерно в то же время Крейг Вентер (J. Craig Venter), известный молекулярный генетик и один из основателей фирмы *Synthetic Genomics* в Сан-Диего, штат Калифорния, сообщил о намерении разработать метод получения бензина из водорослей. В 2009 г. под эту широко разрекламированную идею он получил \$300 млн от нефтяной компании *Exxon Corp.* А в 2010 г. Кислинг стал обладателем гранта Министерства энергетики в \$134 млн для

финансирования исследований по перепрограммированию дрожжевых клеток на синтез дизельного топлива из химических веществ, вырабатываемых сахароносными растениями. Немного ранее он стал одним из основателей биотехнологической компании *Amyris*, расположенной в Эмервилле, штат Калифорния, с целью коммерциализации альтернативного способа получения топлива.

Оба проекта не привели к успеху, что послужило плохой службой синтетической биологии. Через четыре года *Exxon Corp.* и *Amyris* закрыли проект. Высокая стоимость получаемого коммерческого продукта по сравнению с текущей ценой на нефть и природный газ заставили *Amyris* отложить свои проекты. Эта и другие компании, занимающиеся синтетической биотехнологией, основанные в период между 2005 и 2010 гг., достигли больших успехов в конструировании биологических цепей, но их инновации не сопровождались большой шумихой. Продукты, получаемые с помощью данных цепей, использовались в производстве растворителей и лубрикантов, а также в качестве важного компонента косметических средств, ароматизаторов, детергентов и бесчисленных пищевых добавок.

Пока именитые инвесторы и массмедиа были захвачены будоражащими воображение перспективами получения биотоплива с помощью микробов — и почти не интересовались практической стороной дела, — Коллинз с коллегами без всякой шумихи почти всю первую декаду XXI в. работали над решением задач, связанных с получением более эффективных терапевтических средств. Потратив годы на проведение сложнейших экспериментов, Коллинз в 2010 г. сконструировал бактерию, которая, по данным лабораторных тестов, обладала настолько низкой устойчивостью к антибиотикам, что не могла противостоять ни одному из них.

Примерно в то же время Тим Лу (Tim Lu), один из бывших аспирантов Коллинза (получивший докторскую степень инженера-электротехника и специалиста по компьютерам в Массачусетском технологическом институте и степень доктора медицины в Гарвардском университете), построил сконструированные им цепи в другой микроорганизм — вирус, инфицирующий бактерии (бактериофаг). Некоторые колонии бактерий окружают себя клейкой биопленкой, что приводит к трудноизлечимым инфекционным заболеваниям. Возможно, эта пленка служит для них защитой от бактериофагов, но она же блокирует доступ лекарственных средств. Лу построил в бактериофаг цепь, содержащую ген, который кодирует разрушающую пленку фермент и наделяет фаг способностью обнаруживать пленку, проникать сквозь нее и секретировать в окружающую среду гидролизующий фермент.

Лу и Коллинз понимали, что для оптимизации их нового способа борьбы с патогенными микроорганизмами понадобится не один год. Но при этом они надеялись на то, что их бактерии вскоре найдут другое коммерческое применение. На конференции в *Atlas Venture* в Кеймбридже, состоявшейся в 2013 г., Лу и Коллинз сообщили собравшимся там бизнесменам о том, что созданные в их лаборатории генетически модифицированные микроорганизмы можно превратить в живых сенсоров, способных улавливать признаки болезней на самых ранних стадиях или обнаруживать в воде и воздухе загрязняющие вещества в минимальных количествах.

Участников конференции, однако, интересовала несколько другая идея. Они полагали, что гораздо выгоднее было бы настроить бактерии не просто на выявление признаков патологии — скажем,

Идея атаковать раковую клетку изнутри особенно привлекательна тем, что в отличие от химиотерапии «сражение» разворачивается в пространстве, ограниченном клеточной стенкой. Опыты на мышах с метастазирующей опухолью показывают, что бактериальная терапия в сочетании с химиотерапией приводит к уменьшению размеров опухоли и к 50-процентному увеличению продолжительности жизни

в кишечнике, — а еще и на борьбу с ней. Для решения задачи была создана фирма *Synlogic*. В начале 2015 г., спустя шесть месяцев после того как она начала набирать сотрудников, на основе изобретения Коллинза и Лу появилась первая версия терапии нарушения метаболизма мочевины.

«Я работаю в фармацевтической промышленности очень давно и никогда не видел, чтобы научная идея так быстро претворилась в жизнь», — говорит Бхаратт Ховрира (Bharatt Chowrira), консультант *Synlogic*.

Многоцелевые цепи

«Действующее вещество» инновационного лечебного средства — чрезвычайно «умная» цепь, собранная из генетических элементов, открытых в ходе многолетних исследований *E. coli*. Она ответственна за превращение обычного для бактерий

метаболического пути «аммиак — азот — клетка» в фабрику по производству аминокислоты аргинина. Эта аминокислота была выбрана потому, что для ее синтеза требуется больше азота, чем для синтеза любой другой аминокислоты. Переход клетки на выработку аргинина превращает бактерию в жадного поглотителя аммиака — источника азота. Такая бактерия синтезирует «в 5 тыс. раз больше аргинина, чем ее нормальный аналог», — говорит Хосе-Карлос Гутьеррес-Рамос (Jose-Carlos Gutierrez-Ramos), исполнительный директор *Synlogic*.

Но в цепи обязательно должен быть переключатель, сегмент ДНК, активируемый неким белком, в данном случае — белком под названием *FNR*. Подобно терморегулятору в кондиционере, *FNR* реагирует на условия среды, в которой находится бактерия, конкретно — на содержание в ней кислорода. Когда *FNR* «понимает», что кислорода недостает (именно это характерно для толстой кишки), он активирует гены, необходимые ей для выживания. Когда же бактерия покидает организм и попадает в среду, богатую кислородом, *FNR* молчит. Такой механизм предотвращает массовый исход быстро размножающихся микробов.

«Оставалась, однако, нерешенной одна проблема», — говорит Миллер из *Synlogic*. В геноме *E. coli* присутствует «репрессор переключателя», ген *argR*, который блокирует синтез аргинина, как только уровень его в клетке становится выше нормы, и для того чтобы система вы-

работки данной аминокислоты функционировала так, как это нужно экспериментаторам, необходимо найти способ инактивации *argR* в созданной цепи. Для этого исследователи из *Synlogic* заменили длинный сегмент ДНК, содержащий *argR* и примыкающие к нему участки, почти идентичным сегментом, в котором не было *argR*.

Сразу несколько биологов-синтетиков разработали генетическую цепь другого назначения: она обеспечивала доставку лекарственных средств в толщу опухоли. Хэсти оснастил один из штаммов *Salmonella*, безвредный для человека, набором специфических генетических инструкций. В ходе недавних испытаний обнаружилось, что некоторые бактерии поселяются в опухолевой ткани. Возможно, они используют это прибежище как способ избежать реакции со стороны иммунной системы.

Сконструированная Хэсти бактерия выполняет двоякую функцию. Вначале в ней вырабатывается в большом количестве противораковое вещество, а затем бактерия с током крови, питающей опухоль, проникает в ее глубины. По сигналу, подаваемому встроеной генетической цепью, *Salmonella* саморазрушается и из нее высвобождается противоопухолевая начинка.

Затем Хэсти добавил к цепи несколько элементов, благодаря чему терапия стала самообновляющейся. «Мы ввели в бактериальную клетку сенсорную систему, которая реагировала на численность популяции *Salmonella* внутри опухолевой клетки», — говорит он. Когда популяция достигала определенных размеров, сенсор включал процесс высвобождения белка, под действием которого бактерия перемещалась из толщи опухоли к периферии, выбрасывая накопленное в ней противораковое вещество. В результате акта суицида большинство бактерий погибали, а выжившие продолжали размножаться. Этот цикл мог продолжаться сколько угодно долго.

Идея атаковать раковую клетку изнутри особенно привлекательна тем, что в отличие от химиотерапии «сражение» разворачивается в пространстве, ограниченном клеточной стенкой. Как показывают опыты на мышах с метастазирующей опухолью, «бактериальная терапия по своей эффективности не превышает стандартную химиотерапию, если применяется сама по себе, но в сочетании с последней приводит к уменьшению размеров опухоли и к 50-процентному увеличению продолжительности жизни», — говорит Хэсти.

Дальнейшие шаги

Работа по терапевтическому использованию *Salmonella* находится на начальной стадии. Исследования же по применению *E. coli* для борьбы с нарушением метаболизма мочевины продвинулись довольно далеко, и процедура одобрения первого терапевтического средства, основанного на применении генетически модифицированных микроорганизмов, близка к завершению. *FDA* выработало правило контроля работы с этим продуктом, отнеся его к новой категории лекарственных средств под названием «живые биотехнологические продукты». В отличие от других (за исключением вакцин) последние представляют собой микроорганизмы, подверженные мутациям, и *FDA* хочет получить гарантии, что разные партии препарата не будут отличаться одна от другой. Кроме того, управлению нужно убедиться, что микроорганизмы не смогут самостоятельно распространяться в окружающей среде. «Многие из нас пристально следят за тем, как *Synlogic* контролирует все манипуляции с новым продуктом, — говорит Хэсти. — Если компания не получит вердикта от *FDA*, мы все будем огорчены».

Что касается применения перепрограммированных клеток для диагностики, то здесь процесс проверки, по всей вероятности, займет меньше времени и не будет столь дорогостоящим, как испытания терапевтических средств. Многие новые проекты в области синтетической биологии нацелены на перепрограммирование бактерий именно для использования их в целях диагностики. «Можно сконструировать кишечные бактерии, способные идентифицировать, запоминать и передавать информацию, полученную ими во время перемещения по желудочно-кишечному тракту», — говорит Памела Силвер (Pamela Silver), одна из основательниц отдела системной биологии в Гарвардском университете. В ее лаборатории создан диагностический инструмент, содержащий генетическую цель, которая наделяет бактерию способностью к обнаружению антибиотиков в пищеварительной системе мышей. Если антибиотик активен, цепь генерирует флуоресцентный сигнал в фекалиях.

«Такой пример убеждает нас в реальности создания живых диагностических систем, — говорит Силвер. — Наша конечная цель — отслеживание с их помощью хода патологических процессов в кишечнике». Кишечник человека трудно обследовать, поскольку современные методы инвазивны, болезненны и дороги.

«Живая диагностическая система напоминает чип, потенциально гораздо более чувствительный, чем любой другой инструмент», — добавляет она. Кроме того, ее можно снабжать дополнительными устройствами с новыми функциями. «Мы надеемся, что живые диагностические цепи можно будет усовершенствовать, с тем чтобы использовать их для доставки лекарственных средств к местам воспаления кишечника, — полагает Силвер. — Потенциал новой технологии предполагает возможность применения ее в самых разных целях».

Перевод: Н.Н. Шафрановская

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ИСТОЧНИКИ

- Гиббс У. Синтетическая жизнь // *ВМН*, № 8, 2004.
- Engineering Life. Ahmad S. Khalil, Caleb J. Bashor and Timothy K. Lu in *The Scientist*, Vol. 27, No. 8; August 2013. www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/36724/title/Engineering-Life
- Principles of Genetic Circuit Design. Jennifer A.N. Brophy and Christopher A. Voigt in *Nature Methods*, Vol. 11, pages 508–520; May 2014.
- The Era of Synthetic Biology and Genome Engineering: Where No Man Has Gone Before. Timothy K. Lu et al. in *Journal of Molecular Biology*, Vol. 428, No. 5, Part B, pages 835–836; February 27, 2016.
- Engineering Synthetic Gene Circuits in Living Cells with CRISPR Technology. Barbara Jusiak in *Trends in Biotechnology*, Vol. 34, No. 7, pages 535–547; July 2016.