

**Новая вакцина от COVID-19,** показанная здесь в виде трехмерной модели, была создана на основе искусственной белковой наночастицы и предназначена для получения мощной иммунной защиты

БИОХИМИЯ

# ЖИЗНЬ, НОВАЯ *и* улучшенная

Все процессы в нашем организме регулируются природными белками. Теперь исследователи научились создавать белки искусственно. Благодаря данному достижению получена новая вакцина от *COVID-19* и, возможно, произойдет революция в биологии

Роуэн Джейкобсен

## ОБ АВТОРЕ

Роуэн Джейкобсен (Rowan Jacobsen) — журналист и автор нескольких книг, среди которых «Тени на заливе» (*Shadows on the Gulf*, 2011) и «Трюфельная гончая» (*Truffle Hound*, 2021). Среди его многочисленных журнальных статей в *Scientific American* были опубликованы «Цветы-призраки» (ВМН, № 4, 2019) и «Неуязвимые клетки» (ВМН, № 8–9, 2019). В 2017–2018 гг. он был стипендиатом программы научной журналистики *Knight Science Journalism* в Массачусетском технологическом институте.



Одним вечером в апреле 2020 г. сидящая в одиночестве в лаборатории Вашингтонского университета Лекси Уоллс (Lexi Walls) с беспокойством ожидала результатов самого важного эксперимента в своей жизни. Уоллс — молодой специалист по структурной биологии, эксперт по коронавирусам, в течение последних трех месяцев день и ночь работавшая над созданием нового типа вакцины против патогена, посеявшего хаос на планете. Она надеялась, что в случае успеха ее подход не только поможет укротить *COVID-19*, но и произведет революцию в вакцинологии, позволив эффективно бороться со многими инфекционными заболеваниями — от гриппа до СПИДа. В отличие от всех вакцин, используемых ранее, эта была получена не из природных компонентов, а из искусственных микроскопических белков, спроектированных на компьютере. Их создание — возможность перестраивать природу.

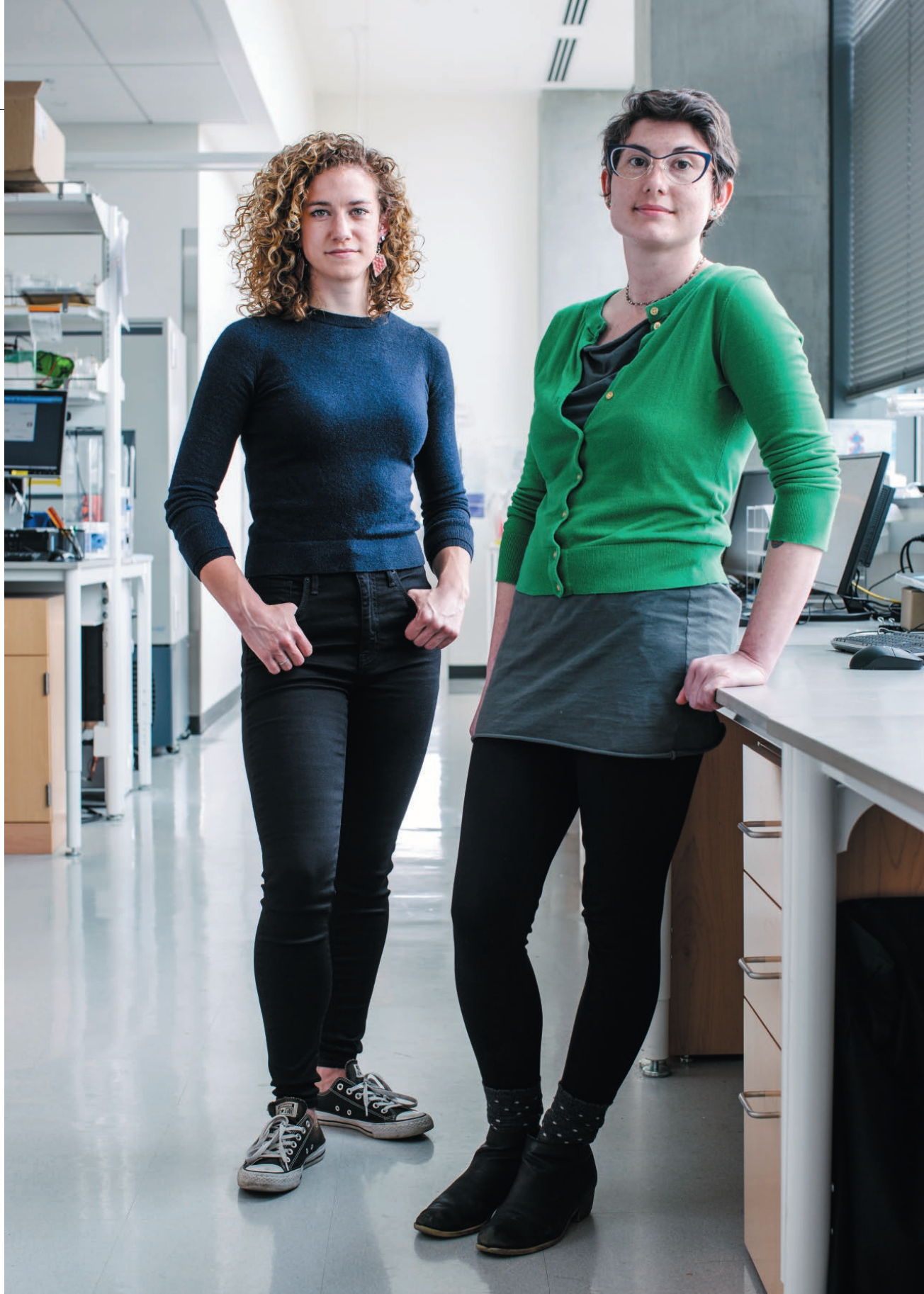
Белки — это сложные наномашинны, которые постоянно взаимодействуют друг с другом и выполняют большинство задач в живых организмах. Они переваривают пищу, борются с инфекцией, устраняют повреждения, воспринимают и передают сигналы из окружающей среды, осуществляют действия, помогают думать и участвуют в размножении. Они состоят из длинных цепочек более простых молекул, называемых аминокислотами, скручиваются и складываются в чрезвычайно сложные трехмерные структуры, подобно оригами. Их формы зависят от порядка и количества различных используемых аминокислот, которые могут обладать отталкивающими или притягивающими свойствами. Их взаимодействия настолько сложны, а масштаб так мелок (в среднем в клетке содержится 42 млн белков), что мы долгое время не могли понять принципы, по которым они спонтанно и стабильно сворачиваются из нитей в нужную форму. Многие специалисты предполагали, что мы не узнаем этого никогда.

Однако новые наблюдения и открытия в области искусственного интеллекта позволяют

заставить белок раскрыть свои секреты. Сейчас ученые разрабатывают биохимические инструменты, которые изменят наш мир. С их помощью мы сможем использовать белки для создания нанороботов, которые будут бороться с инфекционными заболеваниями на уровне одиночных молекул, посылать сигналы по организму, разрушать токсичные вещества или улавливать свет. Мы можем создавать биологические молекулы с определенной задачей.

Уоллс находится на переднем крае этих исследований. В декабре 2019 г. она защитила диссертацию, темой которой была структура коронавируса, тогда этим мало кто занимался. «На протяжении пяти лет я пыталась убедить людей в важности проблемы коронавируса, — рассказывает она. — В начале защиты я сказала, что собираюсь объяснить, почему это семейство вирусов потенциально может вызвать эпидемию, к которой мы не готовы. К сожалению, в итоге мое предсказание сбылось».

Когда в конце декабря 2019 г. из китайского Уханя просочились слухи о загадочной новой пневмонии, Уоллс заподозрила коронавирус.



**Разработчики вакцины** Лекси Уоллс (слева) и Брук Фиала (справа) использовали специально изготовленные белки для получения новой многообещающей прививки от COVID-19. За счет размахивания уязвимым участком вируса SARS-CoV-2 перед клетками иммунной системы провоцируется сильная нейтрализующая реакция.

10 января 2020 г. был опубликован в публичном доступе геном SARS-CoV-2. Уоллс и руководитель ее лаборатории в Вашингтонском университете биохимик Дэвид Вислер (David Veelsler) просидели всю ночь над его анализом. Уоллс говорит, что почувствовала потрясающую сосредоточенность, что-то вроде: «Хорошо, мы знаем, что делать. Давайте сделаем это».

**К**ак и другие коронавирусы, SARS-CoV-2 похож на шарик, покрытый белковыми «шипами». У каждого шипа на конце есть участок, который называется рецептор-связывающим доменом (RBD), он состоит из группы аминокислот, расположение и заряды которых идеально сочетаются с белком-рецептором на поверхности человеческих клеток. Вирусный белок стыкуется с рецептором, как космический корабль, и вирус использует это соединение, чтобы проскользнуть внутрь клетки и размножиться.

Поскольку RBD играет такую вредную роль, антитела иммунной системы атакуют его в первую очередь. Это тоже белки, организм создает их, чтобы они связывались с RBD и выводили его из строя. Но специализированным клеткам нужно некоторое время, чтобы выработать достаточное количество эффективных антител, и за этот период вирус зачастую успевает нанести серьезный ущерб.

Первое поколение вакцин от COVID-19, в том числе спасительные мРНК-вакцины, действуют за счет введения в организм белка шипа вместо живого коронавируса, так что иммунная система учится узнавать RBD и «мобилизовать войска». Но RBD может укрываться за другими участками белка шипа, защищающими домен от антител, которые хотят с ним связаться. Это делает иммунный ответ менее эффективным. Кроме того, свободно плавающий белок шипа непохож на настоящий вирус и не всегда запускает сильную иммунную реакцию, если не используются большие дозы вакцины. Большой объем дозы увеличивает стоимость и может вызывать сильные побочные эффекты.

Какими бы удачными ни были вакцины от COVID-19, многие специалисты считают использование природных белков временным методом. «Становится ясно, что простого введения естественных или стабилизированных белков недостаточно», — поясняет Рино Раппуоли (Rino Rappuoli), главный научный сотрудник и руководитель отдела разработки вакцин в крупнейшей британской фармакологической компании *GlaxoSmithKline* (GSK). Большинство современных вакцин, как от детских болезней,

так и от гриппа, содержат белки естественного происхождения, которые вакцинологи называют иммуногенами. «Нам необходимо создать иммуногены, которые были бы лучше естественных», — говорит Раппуоли.

У Уоллс и Вислера возникла идея. А что если вместо целого шипа предъявить иммунной системе только кончик RBD, который не был бы закрыт никакой защитой? «Мы захотели показать иммунной системе главный компонент, объяснить, на что именно ей надо реагировать», — рассказывает Уоллс.

Сложность заключалась в том, что у биологических существ не образуются изолированные RBD и этот участок слишком мал и незнаком, чтобы привлечь к себе внимание иммунной системы. Однако Уоллс и Вислер знали нескольких человек, способных помочь в решении проблемы. Неподалеку располагалась лаборатория Института белкового дизайна Вашингтонского университета. В институте про сворачивание белка понимали достаточно, чтобы спроектировать и создать несколько сотен простых маленьких белков, значительно меньше тех, что когда-либо встречались в живых организмах, но складывающихся в определенную форму с предсказуемыми функциями.

В 2019 г. группа ученых из этой лаборатории под руководством биохимика Нила Кинга (Neil King) сконструировала два крошечных белка с подходящими друг другу поверхностями, которые при смешивании в растворе соединялись и самособирались в наночастицы. Эти шарики были размером с вирус, а их структуру можно было подкорректировать с помощью простых изменений в генетической последовательности. Когда ученые украсили данные частицы 20 белковыми шипами от респираторно-синцитиального вируса, который представляет собой вторую по значимости причину детской смертности в мире, в первоначальных тестах частицы вызвали внушительный иммунный ответ.

Уоллс и Вислер подумали: почему бы не попробовать использовать аналогичные наночастицы для вакцины от SARS-CoV-2, взяв RBD вместо целого белка шипа? Наночастицы с фрагментом белка имеют еще и то преимущество, что производство вакцин такого типа дешевле и быстрее, чем тех, где используется убитый или ослабленный вирус. Кроме того, они будут храниться при комнатной температуре и их легче транспортировать, чем нежные мРНК-вакцины, которые необходимо держать в глубокой заморозке.

Уоллс связалась с Институтом белкового дизайна и в сотрудничестве со специалисткой по наночастицам Брук Фиалой (Brooke Fiala),

которая работала с Кингом, приступила к созданию прототипа — сферической наночастицы, содержащей 60 копий RBD. Ученые попытались сделать нечто необычное: вместо того чтобы прилепить RBD непосредственно на поверхность наночастицы, они прицепили их с помощью коротких нитей из аминокислот, наподобие воздушных змеев. Если дать RBD немного больше пространства, это позволит иммунной системе рассмотреть его со всех сторон и выработать антитела, которые смогут атаковать множество различных точек.

Однако никто не знал, сработает ли это. Поэтому в тот апрельский вечер в прошлом году Уоллс ждала результатов, скрестив пальцы на удачу. Тремя неделями ранее они с коллегами ввели некоторым мышам вакцину с наночастицами. Другие грызуны получили обычный белок шипа из других вакцин. Теперь ученые взяли у животных кровь и смешали ее с псевдовиром SARS-CoV-2 — искусственной, нереплицирующейся версией вируса, которую безопаснее использовать в лабораториях. Нужно было посмотреть, выработались ли у кого-нибудь из вакцинированных мышей антитела, которые могли бы заметить и нейтрализовать псевдовир.

Антителам требуется некоторое время, чтобы выполнить свою миссию, поэтому Уоллс пришлось ждать до позднего вечера. Она ни за что не согласилась бы поехать домой, провести в напряжении все выходные. Закрывая дверь, коллеги пожелали ей удачи. Перед уходом Вислер попросил связаться с ним сразу, как только будут результаты.

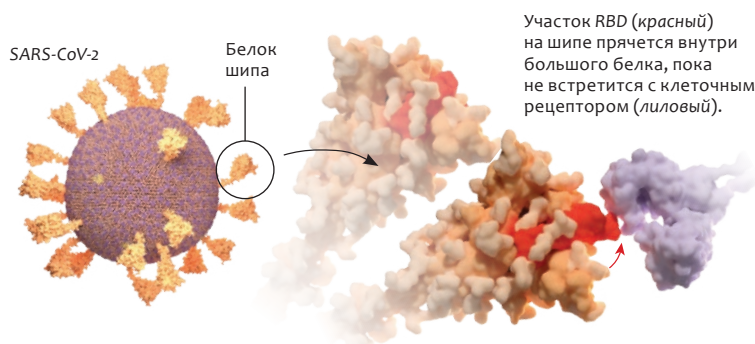
На улице уже стемнело, а в лаборатории царил призрачная тишина. Наконец пришло время посмотреть.

Уоллс включила установку, позволяющую обнаруживать и подсчитывать антитела, прикрепившиеся к вирусным частицам, глубоко вдохнула и взглянула на цифры.

Некоторым мышам вводили небольшое количество простого белка шипа, и это было абсолютно безрезультатно: нулевой эффект при взаимодействии с псевдовиром.

## Выявление уязвимого места вируса

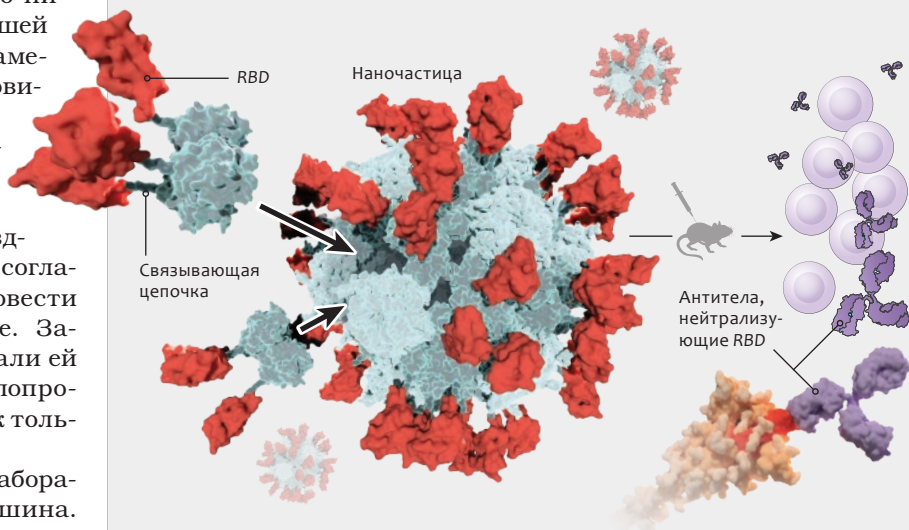
Вирус SARS-CoV-2 скрывает свои уязвимые участки. При использовании современных вакцин в организм вводится свободно плавающий белок шипа вируса, который должен запустить выработку антител. Но важная часть шипа, рецептор-связывающий домен (RBD), который прикрепляется к клеткам, обычно скрыт в складках большого белка. Поэтому иммунной системе сложно найти RBD и создать к нему антитела. Теперь разработчики вакцины выделили RBD и прицепили его к искусственной наночастице. Предполагается, что это обеспечит мощную выработку антител.



Введение мышам целого шипа вызывает умеренную реакцию иммунных клеток, вырабатывающих антитела.



В новой вакцине RBD свободно связан с самособирающейся искусственной наночастицей. RBD не защищен, поэтому антитела к нему вырабатываются лучше.



Те животные, которые получили большие дозы белка шипа, выработали антитела с умеренным нейтрализующим эффектом, это было сопоставимо с эффектом от некоторых других вакцин. Но мыши, получившие вакцину с наночастицами, полностью победили псевдовир. Антитела облепляли его и демонстрировали в десять раз более сильный



Для того чтобы заблокировать вирус, Лунсин Цао из Института белкового дизайна разработал маленькие искусственные белки, так называемые мини-связыватели. Они прилипают к той части коронавируса, которая прикрепляется к клеткам, и останавливают его. Мини-связыватели можно впрыскивать в нос для предотвращения заражения.

нейтрализующий эффект по сравнению с вакциной, содержащей большое количество белка шипа. Результат сохранялся, даже когда использовалась лишь мизерная доза. Перед Уоллс было то, что могло стать недорогой, хорошо хранящейся и сверхсильной вакциной.

Она отправила Вислеру сообщение, набранное заглавными буквами: «ОНИ НЕЙТРАЛИЗУЮТ!»

Вислер ответил: «В твоих руках следующее поколение вакцин от коронавируса!»

Это был лишь первый из нескольких тестов, которые должна была пройти вакцина. Исследователям еще предстояло доказать, что вакцина сможет защитить и от живого вируса мышей, обезьян и, наконец, людей. Последний этап тестирования наночастиц запустили в начале 2021 г. Но в тот момент в апреле были успешно продемонстрированы возможности белкового дизайна, это означало появление технологии, о которой раньше и не помышляли. Мы научились лепить живую материю, из которой мы все созданы.

**К**акой бы радикальной ни была генетическая революция последних десятилетий, белки по-прежнему оставались загадкой. Ген представляет собой просто зашифрованную информацию об отдельном белке. В гене набор из трех нуклеотидов ДНК, обозначаемых буквами, кодирует одну аминокислоту, а другой триплет кодирует другую аминокислоту. Существуют 20 аминокислот, которые клетка может использовать в качестве блоков для строительства белка, и каждая аминокислота имеет уникальную форму и функцию. Некоторые более гибкие, чем другие. Одни несут положительный заряд, а другие — отрицательный. Некоторые притягиваются к воде, а другие отталкиваются.

Весь день напролет наши клетки синтезируют новые белки с точным порядком аминокислот, прописанным в наших генах, и белки спонтанно сворачиваются в нужную форму. От этой формы и от заряда атомов на открытых участках зависит функция белков: на какие сигналы они реагируют, к чему прикрепляются, что могут делать. Когда мы говорим: «У него есть ген рыжих волос», это значит, что у него есть информация для синтеза белков, которые обеспечивают образование определенного пигмента. Когда мы говорим: «У нее есть ген, вызывающий рак молочной железы», это значит, что у нее есть мутация в гене, из-за которой образуется белок с неправильной аминокислотой, он работает некорректно, а это может привести к раку.

Понимание механизма сворачивания белков позволило бы нам разработать новый тип лекарств, которые могли бы связываться с вышедшими из строя белками или заменять их, а также помогло бы разобраться в причинах таких заболеваний, как болезни Альцгеймера, Паркинсона, Гентингтона и муковисцидоз, которые возникают из-за деформированных белков.

К сожалению, белки настолько малы, что даже с помощью мощных микроскопов невозможно понять, что происходит в этом наном мире. Мы не знаем точно, как белки должны складываться правильно, не говоря уж о том, что происходит не так, когда они сворачиваются неверно. Для получения на специальном оборудовании изображения одного белка с высоким разрешением могут понадобиться год работы и \$120 тыс. Сейчас мы знаем структуру всего 0,1% из них. В остальных случаях мы строим предположения. Это остается загадкой, несмотря на достижения генетической революции. Определенные генетические последовательности влияют на физические и психические проявления, но зачастую мы не знаем почему. Нам не хватало Розеттского камня для структуры белка, чтобы перевести то, что происходит на пути от считывания генетической последовательности до реализации функций организма.

Теоретически должна быть возможность предсказать итоговую структуру белка по кодирующему его гену, и научиться этому столь важно, что в 2005 г. журнал *Science* включил эту задачу в список главных нерешенных научных вопросов, составленный по случаю 125-летия издания. Но на самом деле раньше это было возможно лишь для немногих простых белков. Например, ученые знают, что если им нужно получить альфа-спираль (часто встречающуюся в белках спиралеобразную структуру, обеспечивающую стабильность), то они могут использовать такие аминокислоты, как лейцин, аланин и глутамат, которые имеют подходящие форму и заряд, позволяющие образовывать правильные спирали и плотно связываться с аминокислотами, расположенными витком выше и витком ниже. Если ученым нужно изогнуть спираль, они могут добавить пролин, который не формирует соответствующую связь и позволяет остальной части спирали отклониться в сторону.

Специалисты по структурной биологии, такие как основатель Института белкового дизайна Дэвид Бейкер (David Baker), смогли найти некоторые из этих базовых правил. Исследователи под руководством Бейкера внесли их в компьютерную программу *Rosetta*, которая

предсказывает структуры, и с ее помощью создали несколько небольших белков, в основном длиной в несколько десятков аминокислот. Некоторые из их достижений имеют большой потенциал: микроскопические «нанооболочки» можно использовать для упаковки и транспортировки лекарств по организму, а расположенные на них молекулярные детекторы срабатывают при встрече с раковой клеткой, имеющей на поверхности определенный набор аминокислот.

Однако наиболее важные белки в живых организмах имеют намного больший размер и состоят из тысяч аминокислот, каждая из которых взаимодействует с дюжиной соседей. Некоторые из них образуют связи, прочные, как в алмазе, некоторые наоборот оттачивают других. Подобные взаимодействия меняются в зависимости от расстояния. Таким образом, количество взаимодействий быстро становится астрономическим и расчеты для определения конечных структур долгое время оставались не под силу даже нашим лучшим умам и суперкомпьютерам.

В 1994 г. группа специалистов по вычислительной биологии, раздосадованная сложностью проблемы, решила, что небольшое дружеское соревнование может способствовать некоторому прогрессу. Под руководством Джона Моулта (John Moult) из Мэрилендского университета они запустили конкурс критической оценки прогнозирования структуры белка. Моулт знал подробные характеристики белков, структура которых была недавно определена, но не опубликована. Он рассылал генетическую последовательность для этих белков различным группам из разных исследовательских лабораторий, которые затем предлагали свои идеи о том, как должен выглядеть итоговый белок. Далее оценивали сходство прогнозов с реальной структурой, подсчитывая процент молекул на правильных местах. Правильная базовая структура оценивалась в 50 баллов; если были верно определены углы и связи между основными частями, можно было получить 70; а крошечные молекулярные нити, торчащие из белков, подобно волоскам, могли лишним 90 с лишним баллов.

С тех пор Моулт проводит конкурс каждые два года. Долгое время даже лучшие команды лишь строили догадки. В 2012 г., когда под руководством Бейкера был основан Институт белкового дизайна, команды набирали на конкурсе в среднем 20 баллов, и в течение десятилетия не наблюдалось никакой положительной динамики. «Были моменты, когда, подведя итог конкурса и увидев результаты, я отчаивался, — говорит Моулт. — Я думал: все это баловство,

зачем мы вообще этим занимаемся?» На 11-й раз появились некоторые новые идеи и лучшие результаты в среднем были около 30 баллов, на 12-м конкурсе опять произошел небольшой скачок — примерно до 40 баллов.

Затем, в 2018 г., был 13-й конкурс. Лучшие команды из института Бейкера опять улучшили результат, в среднем почти до 50, но их опередил неожиданный участник: принадлежащая Google компания *DeepMind*, чья система искусственного интеллекта в 2017 г. победила лучшего в мире игрока в го. За каждый белок искусственный интеллект набирал в среднем 57 баллов.

Такой результат потряс мировые лаборатории белковой инженерии, но оказалось, что это была всего лишь генеральная репетиция перед 2020 г. В тот год система *DeepMind* дала точный ответ. «Я подумал: это не может быть правдой, давайте подождем ответов по следующим белкам, — говорит Моулт. — И они продолжали приходить».

В среднем за все белки *DeepMind* набрала 92 балла. В более простых случаях она расположила правильно каждый атом. Но самые впечатляющие результаты были получены для некоторых чрезвычайно сложных белков, которые буквально загнали в тупик большинство команд. За одну молекулу никто не набрал больше 20 с небольшим баллов, а *DeepMind* получила больше 80.

Моулт был ошеломлен результатами. «Я занимался этим большую часть своей карьеры, — говорит он. — Я никогда не думал, что нам удастся достичь такой точности на уровне атомов». По его словам, самое поразительное — что система *DeepMind*, по-видимому, усвоила ранее неизвестные правила. «Это не просто распознавание образов. Каким-то невероятным способом машина "понимает" физику и может рассчитать, как будут располагаться атомы в уникальной последовательности аминокислот».

«Это было шокирующе, — соглашается специалист по структурной биологии и участник конкурса Мохаммед Алькурайши (Mohammed AlQuraishi) из Колумбийского университета. — Никогда бы в жизни не подумал, что увиджу столь стремительный научный прогресс». Алькурайши предполагает, что такой прорыв изменит биологические науки.

Ожидается, что позже в этом году команда *DeepMind* опубликует статью о своих методах и подробно расскажет, как они работали. Но некоторые аспекты могут остаться непостижимыми, поскольку ИИ улавливает слабые связи, которые не поддаются простому описанию в виде правил, и на данный момент ученых есть лишь общие представления, как это работает.

Для того чтобы предсказать влияние аминокислот друг на друга, программисты применили метод, который называется «внимание», в последнее время он стал причиной резкого прогресса в точности языковых переводов с помощью ИИ. Подобно белкам, язык — это кажущаяся линейной цепочка информации, которая сворачивается, образуя смысл. Слова вроде «это» могут иметь значение слова, использованного в совершенно другом предложении. Когда мы общаемся, мы постоянно перемещаемся вперед и назад по линейной цепочке, обращая внимание на определенные группы слов, чтобы понять, что в этом контексте означает другое слово. Как только мы определяем значение, то можем перейти к следующей группе слов, чтобы понять предыдущее в свете новой информации.

Анализируя структуру белка, *DeepMind* делает что-то похожее, сосредоточивая внимание на одной группе расположенных по соседству аминокислот и пытаясь понять их влияние друг на друга. Например, по-видимому, некоторые пары аминокислот в процессе эволюции оставались вместе, что указывает на наличие связи между ними и ограничивает их возможное положение в белке. Система *DeepMind* использует данную информацию, переходя к другой части белка и анализируя новый участок в свете того, что знает о предыдущем. Она многократно возвращается ко всем участкам белковой цепочки и в итоге на основе этой информации строит трехмерное облако из отдельных элементов, в котором отражены отношения всех атомов всех аминокислот. В сущности, ИИ рассматривает сворачивание белка как новый, чужой язык, который надо расшифровать.

Алькурайши говорит, что по мере того как другие лаборатории внедряют методы *DeepMind* и высококачественное прогнозирование строения белка становится повсеместным, длительность периода проб и ошибок, предшествующего получению белка нужной формы, оказывается гораздо короче. «Это делает белковый дизайн намного более эффективным», — говорит Алькурайши.

Однако команда *DeepMind* не занимается прикладной наукой, поэтому их искусственный интеллект не будет тратить время на разработку сложных чертежей для нужного белка. Его большой вклад будет косвенным. «Их работа показывает возможности белков и перспективы создания новых белков в будущем, — говорит биохимик из Калифорнийского технологического института Фрэнсис Арнольд (Frances Arnold), получившая Нобелевскую премию по химии в 2018 г. за улучшение

свойств природных белков с помощью метода направленной эволюции. — Но они не решили проблему проектирования и разработки белков для пользы людям».

Работа ляжет на плечи специалистов всего мира, пытающихся использовать технологии *DeepMind*, чтобы расширить возможности создания белков в своих лабораториях. «Это большой прорыв, — говорит Бейкер, команда которой вновь заняла второе место на конкурсе. — Я думаю, это позволит значительно улучшить то, что уже хорошо работает».

**П**рямо сейчас перед людьми стоит огромная проблема, которая, по выражению Арнольд, разрушает мир. Это проблема — COVID-19. Когда она возникла, Бейкер и другие сотрудники его лаборатории занялись поиском решения среди белков. Они внесли генетическую последовательность коронавируса в их компьютерную программу *Rosetta*, предсказывающую структуру белка, чтобы получить трехмерную модель, а затем изучили ее в поисках слабых мест, подобно пилотам повстанцев, планирующим нападение на «Звезду смерти». Как и Уоллс, они нацелились на *RBD* шипа. Но вместо того чтобы делать вакцину, запускающую выработку антител, Бейкер хотел сделать улучшенное антитело. Ему нужен был белок, единственной целью которого было бы цепляться к *RBD*, как микроскопическая липучка.

Однако антитела не идеальны. Организм не может заранее спроектировать антитело для патогена, которого он никогда не видел. Когда появляется новый захватчик, клетки иммунной системы создают множество копий тех антител, которые связываются с ним лучше всего, но они не обязательно присоединяются достаточно хорошо, чтобы остановить патоген. Кроме того, естественные антитела — относительно крупные белки, которые не всегда могут прицепиться к вирусному *RBD*.

Можно использовать «мини-связыватели», как их называет Бейкер. Это мелкие искусственные белки, в которых аминокислоты расположены так, чтобы они точно подходили к вирусному *RBD*. Без посторонних фрагментов они связываются более плотно. И они достаточно мелкие и легкие, чтобы их можно было впрыскивать через нос, а не колоть в руку. Никаких иголок!

Бейкер мечтал создать не вакцину, а лекарство: назальный спрей, который можно было бы использовать при первых признаках инфекции или заранее в качестве ежедневной профилактики, чтобы заполнить нос аэрозолем из мини-связывателей, которые покрыли

бы *RBD* вирусных частиц прежде, чем им удастся к чему-нибудь прикрепиться. У лекарства был бы длительный срок годности, как у пакета сушеной чечевицы, и его можно было бы быстро переделать для нового патогена и оперативно передать в руки медицинским работникам, учителям и всем тем, кто находится на передовой, — получилась бы своего рода созданная человеком иммунная система для всей цивилизации.

Для того чтобы разработать такие мини-связыватели, Лунсин Цао (Longxing Cao), сотрудник лаборатории Бейкера, возглавивший проект, исследовал структуру вирусного *RBD*, сопоставив его с набором крошечных белков, ранее созданных институтом, в поисках наиболее подходящей формы. Подобно скалолазу на сложном склоне, мини-связыватели должны быть достаточно малы, чтобы протиснуться в ущелье, где расположен *RBD*, и иметь такое строение, чтобы уцепиться «руками и но-

## **Вакцина, простая в производстве, защищающая от мутантных вирусов, которые еще только появятся, может стать именно тем решением, которое нужно миру**

гами» в нужных местах. Цао отметил, где аминокислоты *RBD* образовывали участки с положительными зарядами, с отрицательными зарядами и гидрофобные (водоотталкивающие), а затем подогнал мини-связыватели так, чтобы у них было как можно больше подходящих участков. Он проверил миллионы возможностей с помощью программы *Rosetta*.

Лучшие конструкции состояли из трех спиралей, соединенных короткими нитями аминокислот, так что структура напоминала связку сосисок. Каждый мини-связыватель состоял примерно из 60 аминокислот, это более чем в десять раз меньше размера антитела и в 20 раз меньше размера белка шипа коронавируса.

Затем, конечно, Цао должен был перенести свой белок из программы в реальный мир. Процесс оказался на удивление легким. ДНК, состоящая из нуклеотидов А, Т, G и С, может быть без особых затрат создана на устройствах, похожих на струйные принтеры. Цао напечатал нити ДНК с последовательностью для своего мини-связывателя и ввел их

в дрожжи, которые, как программируемый домашний скот, выработали эти мелкие белки наряду со своими собственными. Затем он собрал белки и проверил их.

Лучший мини-связыватель прикреплялся к вирусу в шесть раз эффективнее, чем самые хорошие антитела, прочнее, чем любая другая молекула на планете, фактически образуя десятки крепких связей с *RBD*. Он был чрезвычайно стабилен и легко наносился в виде спрея. Хомячки, получившие дозу, становились невосприимчивыми к *COVID-19*. «Несомненно, я был взволнован, — говорит Цао. — Но не очень удивлен». Исследователи ожидают, что клинические испытания мини-связывателей начнутся уже в 2021 г., и ряд лабораторий по всему миру сейчас изучают, какими еще способами маленькие белки могут помогать организму или бороться с заболеваниями.

Несмотря на то что эти технологии внушают огромный оптимизм, некоторые специалисты в области биологической безопасности обеспокоены тем, что такие белки могут создаваться и для неблагоприятных целей. Например, прионы, вызывающие «коровье бешенство» и другие нейродегенеративные заболевания, — это неправильно свернутые белки, которые способствуют неправильному сворачиванию других белков, запуская смертоносную цепную реакцию, к тому же заразную, и они могут распространяться в виде аэрозоля. Конвенция о биологическом оружии, подписанная практически всеми странами, фактически запрещает разработку и использование биологического оружия на основе патогенов, но никому в голову не приходило распространить ее и на белки, которые никогда не были частью живого организма.

«Все это вызывает серьезную озабоченность, поскольку потенциальное биологическое оружие будущего — это не обязательно вызывающие заболевание патогены, — говорит эксперт по биологической безопасности Филиппа Ленцос (Filippa Lentzos) из Королевского колледжа Лондона. — Конвенция может распространяться на искусственные мелкие белки, а может и не распространяться, поэтому их юридический статус представляет собой важный вопрос».

Все же угроза от спроектированных мини-белков крайне маловероятна, говорит Ленцос, и не вызывает у нее серьезных опасений: «Если вы хотите причинить вред, то зачем вам применять что-то столь сложное и изощренное, как белковый дизайн? В природе есть множество более доступных вещей, которые можно использовать». Яды и патогены природного происхождения в уже готовом виде можно

встретить повсюду. Если действительно хотеть навредить людям, имеются более простые пути.

**В** настоящий момент в создание полезных типов новейших белков вкладывается все больше научной энергии и знаний, и эти вещества могут вскоре попасть в больницу рядом с вами. Когда из почти 8 млрд людей в мире большинство ожидают вакцину от COVID-19, созданная Уоллс наночастица кажется многообещающим кандидатом.

После успешной нейтрализации псевдовируса в мышинных клетках следующей большой проверкой для вакцины стала встреча с реальным коронавирусом. Для этого Уоллс пришлось отправить своих мышей в лабораторию Ральфа Барика (Ralph Baric) в Университете Северной Каролины. Барик — один из ведущих в мире исследователей коронавируса. Его лаборатория имеет достаточный уровень биологической защиты, чтобы можно было работать с живым вирусом. Барик с коллегами наблюдали за многими вакцинами-кандидатами, поэтому в июне 2020 г. Уоллс была рада получить от них обнадеживающее электронное письмо: нейтрализующая способность вакцины из наночастиц зашкаливала — она была выше, чем у всех вакцин, которые они тестировали.

«Все сработало лучше, чем мы надеялись», — говорит Уоллс. Мыши хорошо пережили встречу с реальным вирусом. Они «полностью защищены, никаких признаков болезни». (Позже Уоллс обнаружила, что можно уменьшить и без того низкую дозу еще в девять раз, добавив бустер и получить такие же хорошие результаты.) В январе этого года началась ранняя фаза клинических испытаний вакцины в штате Вашингтон и в Южной Корее.

Однако пока шли испытания, появились новые варианты вируса, способные уклоняться от некоторых антител, образующихся при использовании вакцин первого поколения. Поэтому Уоллс занялась разработкой новой, улучшенной наночастицы. Вместо копий домена RBD SARS-CoV-2 в этой версии применялась мозаика из RBD четырех различных вирусов: SARS-CoV-2, SARS начала 2000-х гг. и еще двух других коронавирусов. Широкий спектр вариантов RBD вызывал формирование антител ко всем протестированным коронавирусам, в том числе к самому неуловимому варианту.

Вакцина, эффективная в крошечных дозах, простая и недорогая в производстве, не нуждающаяся в охлаждении и защищающая от множества мутантных вирусов, в том числе

от тех, которые способны появиться в будущем, может стать именно тем решением, которое нужно миру. Эти преимущества привлекли внимание крупных фигур в области производства вакцин, в том числе Раппуоли из GSK. «Нет никаких сомнений в том, что наша иммунная система интересуется наночастицами, — говорит он. — Это лучший вариант из имеющихся у нас». В недавнем комментарии в журнале *Cell* Раппуоли предсказал, что такие дизайнерские молекулы откроют новую эру в вакцинации: «Это дает безграничные возможности».

И варианты использования не ограничиваются вакцинами. В наш новый аминокислотный век способность продуманно проектировать наномашину на уровне атомов может превратить борьбу с любым заболеванием в инженерную задачу. «Когда мы решаем проблему, связанные с каким-либо белком, нам надо иметь это в виду, — говорит Уоллс. — Нам необходимо присмотреться к белку и понять, что у нас есть инженерное решение. Каждый день приносит новые успехи в этой области».

Некоторые из этих успехов будут достигнуты в других областях — не в медицине, а, например, в науке о материалах. Так, Институт белкового дизайна изобрел белки, которые собираются в микроскопические сетки с ячейками, способствующие отложению минералов, и это новый способ производства эффективных сверхпроводников и батарей. Другой проект нацелен на создание белков, которые улавливают свет, как при фотосинтезе у растений, и преобразуют полученную энергию в электричество и топливо.

По мере роста возможностей в аминокислотном веке белки естественного происхождения, используемые нами сейчас для лечения, например инсулин для диабетиков, могут показаться столь же архаичными, как каменные орудия, которые применяли наши предки в каменном веке. Точно так же наши нынешние искусственно созданные белки, какими бы потрясающими они ни казались, — не более чем солнечные часы и колеса для телеги. Какой будет картина будущего, наполненного специально спроектированными молекулами, пока остается за пределами нашего понимания. Но, как и новые белки, черты будущего в итоге изящно свернутся в нужную форму. ■

Перевод: М.С. Багоцкая

#### ИЗ НАШИХ АРХИВОВ

■ Бейкер Д. и др. Биофабрики будущего // ВМН, № 9, 2006.