

ПРИОРИТЕТНОЕ НАПРАВЛЕНИЕ VI.51. БИОТЕХНОЛОГИЯ

Программа VI.51.1. Микробиология и вирусология, искусственные генетические системы, бионанотехнологии создания терапевтических препаратов и новых материалов (координатор акад. В. В. Власов)

Учеными Института химической биологии и фундаментальной медицины с помощью метода молекулярной селекции получены модифицированные РНК-аптамеры (рис. 33), прочно связывающиеся с патогенными антителами, содержащимися в крови больных рассеянным склерозом. Эти РНК могут служить основой для создания специфичных методов диагностики рассеянного склероза и для создания средств терапии этого заболевания.

В этом же Институте проведен анализ РНК плазмы крови здоровых доноров и пациентов с раком легкого на геномном секвенато-

ре SOLiD. Секвенировано более 1 млрд последовательностей, 35 % из которых составляют ранее не описанные новые формы (рис. 34). Ряд некодирующих РНК (микроРНК и др.) могут использоваться как маркеры для диагностики рака.

Учеными этого же Института выяснен механизм противоопухолевого действия рибонуклеазы А. В экспериментах на мышках с внутримышечно трансплантированной карциномой легких Льюис (LLC) было показано, что в случае инъекции рибонуклеазы А метастазирование опухоли подавляется. На высокопро-

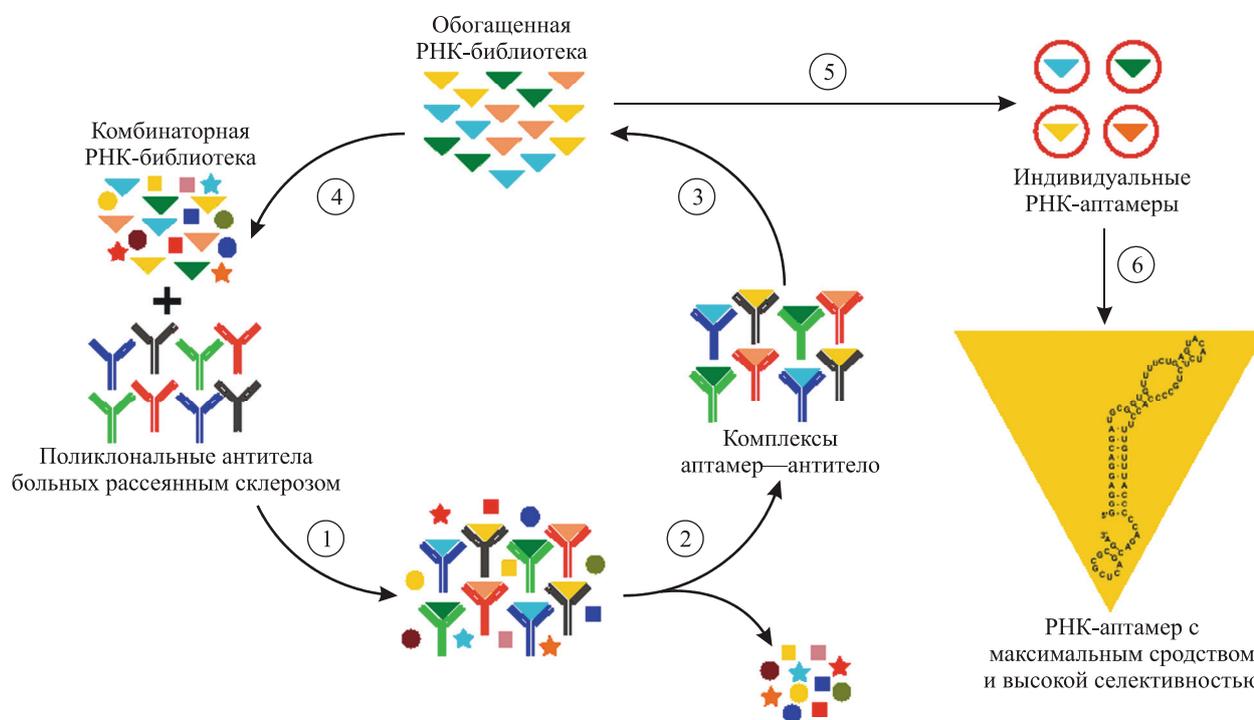


Рис. 33. Схема отбора 2'-модифицированных РНК-аптамеров к поликлональным аутоантителам из крови больных рассеянным склерозом: 1 — инкубация аутоантител со смесью 2'-фтор-модифицированных РНК-олигонуклеотидов (РНК-библиотекой); 2 — удаление несвязавшейся части 2'-фтор-РНК-библиотеки; 3 — разрушение комплексов аптамер—антитело, получение ДНК-копий аптамеров, РНК-транскрипция, получение обогащенной библиотеки 2'-фтор-РНК-олигонуклеотидов; 4 — следующий цикл отбора; 5 — определение последовательностей 2'-фтор-РНК-аптамеров, синтез индивидуальных аптамеров; 6 — исследование свойств полученных аптамеров, выбор аптамера с наилучшими характеристиками.

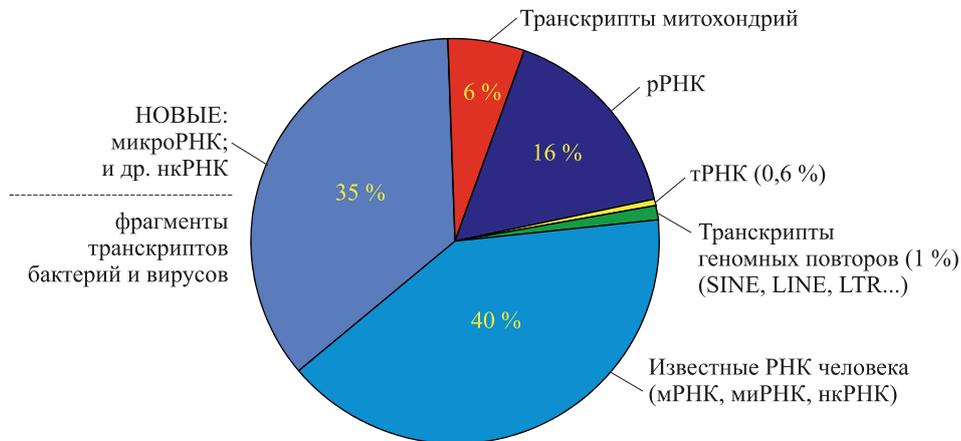


Рис. 34. Известные и новые формы РНК, фрагменты которых циркулируют в плазме крови человека.

изводительной платформе параллельного секвенирования SOLiD 3+ было проанализировано содержание некодирующих РНК в сыворотке крови животных и клетках опухоли и показано, что после лечения РНКазой А происходит

изменение уровней 214 миРНК из 630 известных из базы данных miRBase. 25 миРНК, уровни которых менялись более всего, регулируют экспрессию генов, продукты которых отвечают за пролиферацию клеток и метастазирование.

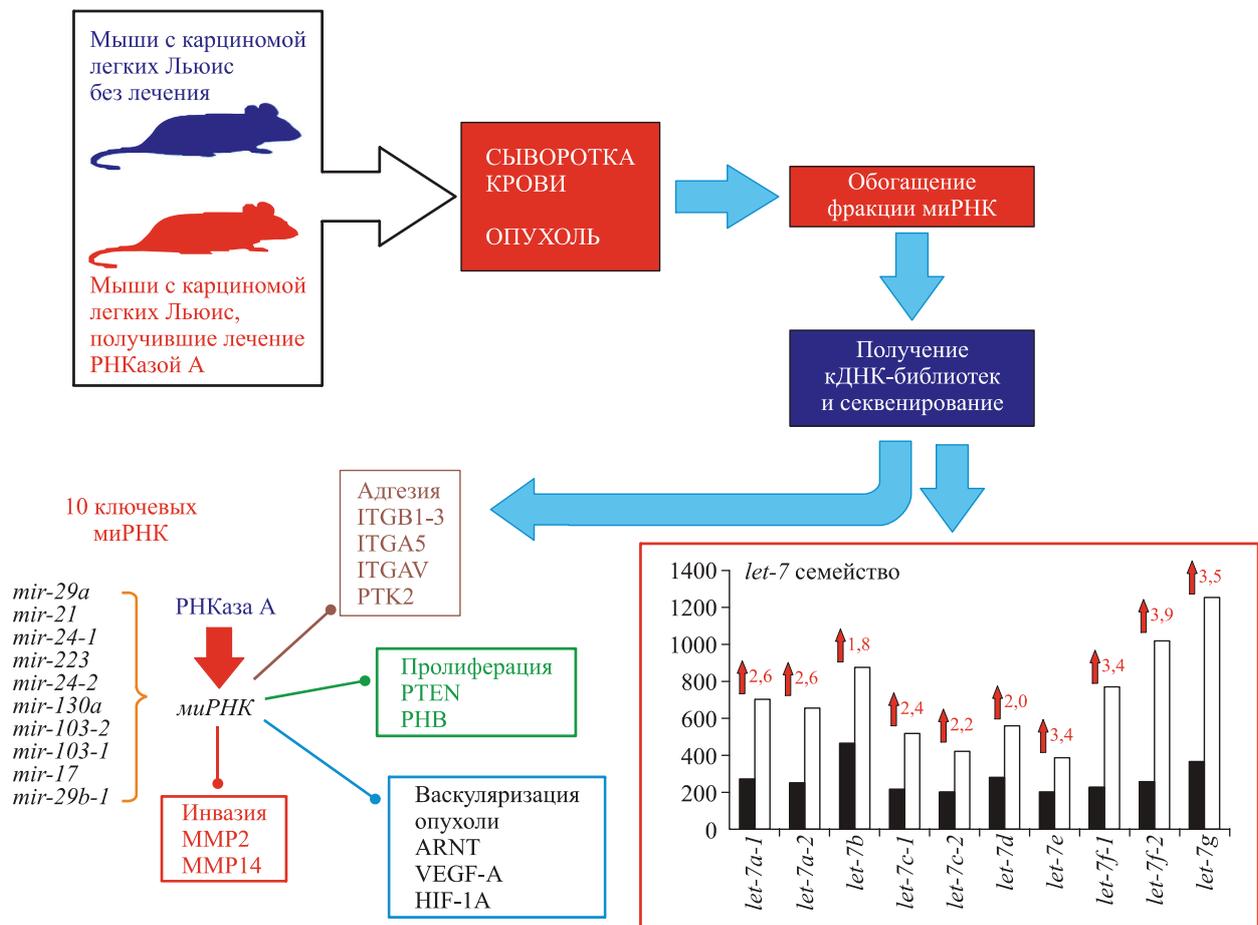


Рис. 35. Схема проведения эксперимента и результаты анализа уровня миРНК при действии РНКазы А на мышей LLC с опухолями.

В клетках опухоли после лечения РНКазой А значительно возрастает уровень миРНК семейства let-7, мишенями которых являются металлопротеиназы, отвечающие за инвазию опухоли (рис. 35).

В этом же Институте впервые с использованием метагеномного секвенирования на платформе SOLiD 5500 обнаружены существенные различия в выявляемых последовательностях вирусных сообществ из микробиомов здоровых детей и детей, госпитализированных с острыми кишечными инфекциями с невыясненной этиологией. У здоровых детей не обнаружено патогенных гастровирусов, зато выявляются последовательности бактериофагов, контролирующей численность нормальной и условно-патогенной флоры кишечника. У больных детей последовательности таких бактериофагов не обнаружены, зато выявляются редкие патогенные гастровирусы, не детектируемые в настоящее время в клинике (рис. 36).

В Институте биофизики СО РАН получены эффективные продуценты биоразрушаемых полиэфигов БИОПЛАСТОТАН, предназначенных для различных сфер применения. Из полимеров БИОПЛАСТОТАН и композитов на их основе разработано семейство специализированных изделий биомедицинского назначения: долговременные лекарственные препараты нового поколения, пригодные для различных способов введения (рис. 37, а, в), наноструктурированные опорные клеточные носители, сформированные ультратонкими волокнами высокого качества, перспективные для тканевой инженерии (рис. 37, б). Высокие биосовместимость и функциональные свойства матриц доказаны в культурах клеток и в экспериментах на лабораторных животных; ряд изделий на основе БИОПЛАСТОТАНА (шовный материал, мембраны, протезы сосудов) переданы для испытаний в клиники.

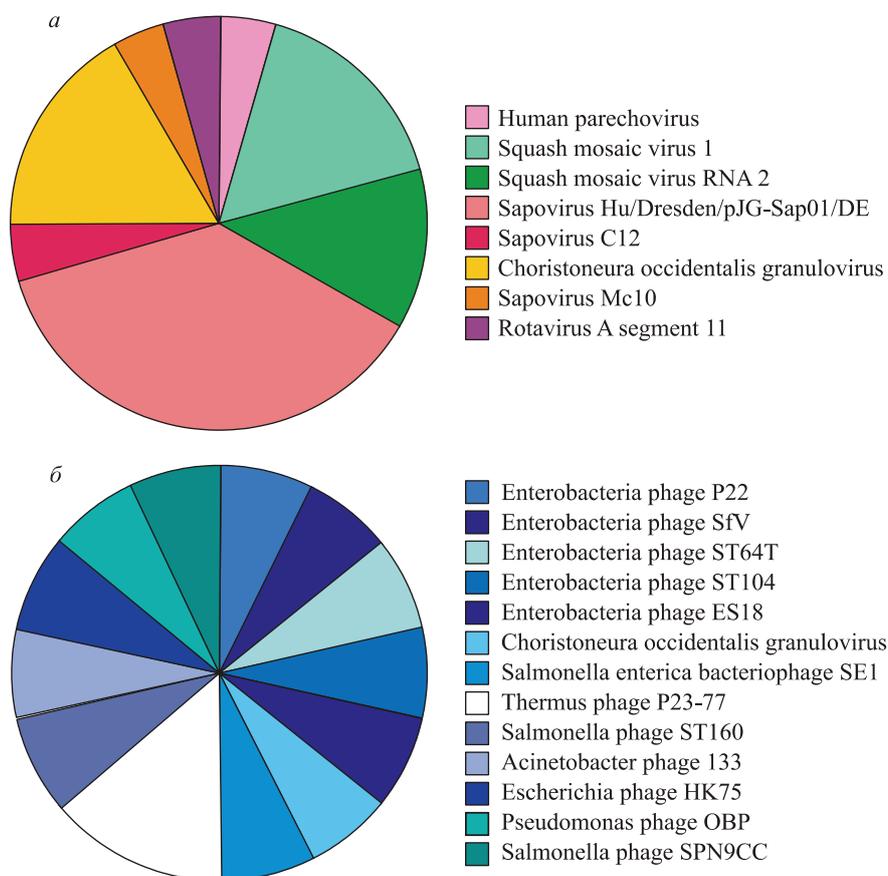


Рис. 36. Распределение встречаемости контигов, содержащих вирусные последовательности, обнаруженные в микробиомах группы детей, госпитализированных с острыми кишечными инфекциями неустановленной этиологии (а) и группы здоровых детей (б).

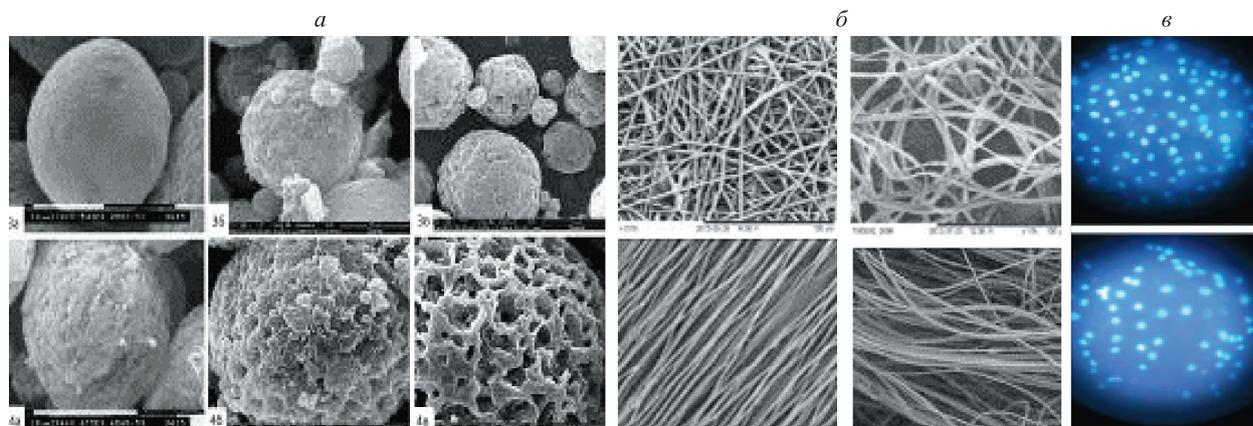


Рис. 37. Растровая электронная микроскопия полимерных микрочастиц для депонирования и доставки препаратов (*a*), сканирующая электронная микроскопия ультратонких волокон из БИОПЛАСТОТАНА (*б*); окраска DAPI (флюоресцентный зонд на ДНК) фибробластов NIH 3T3, пролиферирующих на матриксе разных типов (*в*).

Сотрудниками этого же Института на основе нанодиагностики и биомаркеров сконструирована тест-система определения концентрации холестерина посредством ковалентной пришивки на наночастицы холестерин эстеразы, холестерин оксидазы и пероксидазы (рис. 38). Установлено, что иммобилизованные ферменты проявляют активность и катализируют образование окрашенного продукта в цепи последовательных биохимических реакций. Тест-система позволяет многократно определять концентрацию холестерина *in vitro*; может функционировать в широком диапазоне температуры и pH, деионизованной воде и буферных системах разного состава; обеспечивает линейный выход продукта в интервале низких концентраций холестерина; проявляет функциональную активность после длительного хранения при +4 °С.

В Институте биологических проблем криолитозоны совместно с Северо-Восточным федеральным университетом с помощью современных физико-химических биотехнологий переработки уникального по своему составу северного биосырья созданы комплексные биопрепараты адаптогенного, актопротекторного, иммуномодуляторного, гомеостатического, детоксикационного, антибактериального действия, отличающиеся повышенной биоактивностью и биоусвояемостью активного вещества. Разработки защищены восемью патентами РФ, четырьмя свидетельствами ЕВРАЗЭС и Евросоюза. Доклинические и клинические испытания биопрепарата «Ягель» показали его высокую эффективность при лечении сахарного

диабета II типа, выявлены механизмы эффекта на уровне биоэнергетических процессов в клетках поджелудочной железы, стимуляции секреции инсулина (рис. 39) и системы трансмембранного переноса глюкозы в клетку. Клинически это выразилось в снижении уровня сахара крови у больных сахарным диабетом II типа в 1,4—2,3 раза, гликозилированного гемоглобина и липопротеидов низкой плотности на 18—38 % в результате 3—4-недельного приема препарата.

Учеными Лимнологического института с помощью молекулярно-генетических методов выявлено, что в составе сообществ биопленок независимо от характера исследуемой породы в различных соотношениях доминируют три бактериальные фило: Cyanobacteria (8—46 %), Proteobacteria (14—43 %) и Bacteroidetes (10—40 %). По биомассе доминируют автофототрофные азотфиксирующие цианобактерии. Они как главные продуценты органического вещества являются основой структурной организации биопленок каменистой литорали оз. Байкал (рис. 40).

Сотрудниками Института общей и экспериментальной биологии по данным пиросеквенирования фрагмента гена 16S рРНК выявлены особенности таксономического разнообразия бактериальных сообществ в зависимости от условий среды обитания. Установлено, что в поверхностных осадках содового оз. Соленое (рис. 41, *a*) большое число последовательностей принадлежат бактериям серного цикла (сероокисляющим, пурпурным фотосинтетикам, сульфатредуцирующим бактериям) из различных филогенетических групп. Разнооб-

разие микробного мата из высокотемпературной области щелочной гидротермы Алла (рис. 41, б) представлено ограниченным чис-

лом таксонов, в основном принадлежащих к группам аэробных органотрофов и сульфатредукторов.

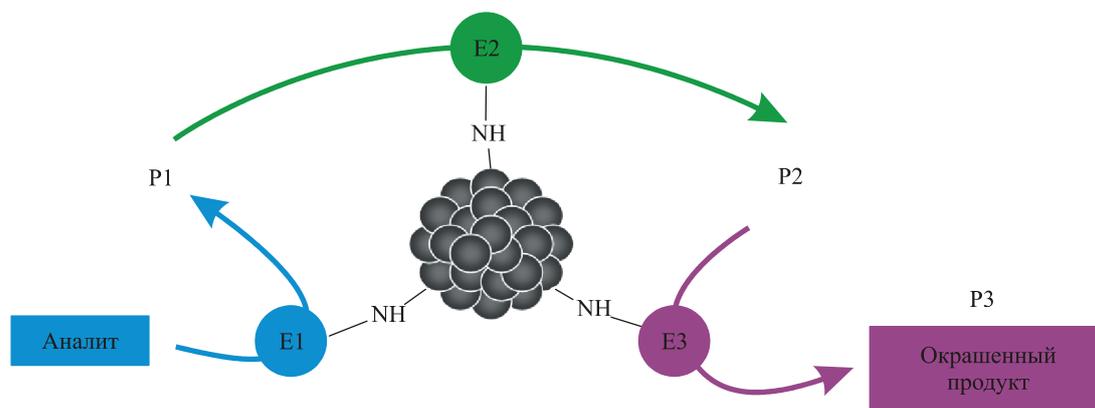


Рис. 38. Схема функционирования тест-системы определения концентрации холестерина, сконструированной на основе наноалмазов и ферментов.

E1 — холестерин эстераза, E2 — холестерин оксидаза, E3 — пероксидаза. P1, P2 и P3 — продукты последовательных биохимических реакций.

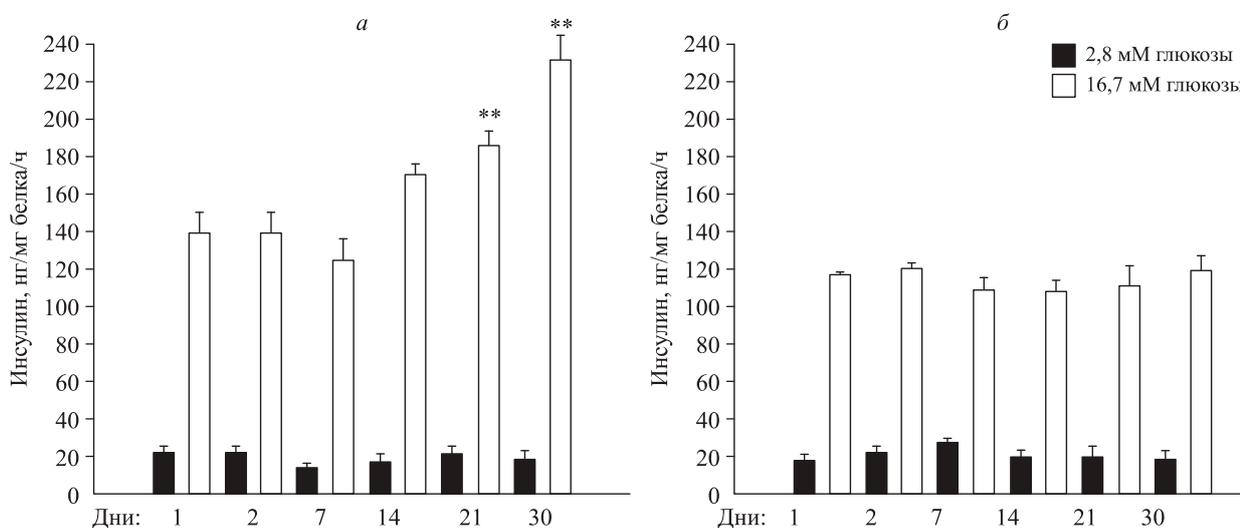


Рис. 39. Секреция инсулина при добавлении в культуру клеток биопрепарата «Ягель» (разбавление 1 : 100) (а), по сравнению с контрольными клетками (культивация без экстракта) (б).

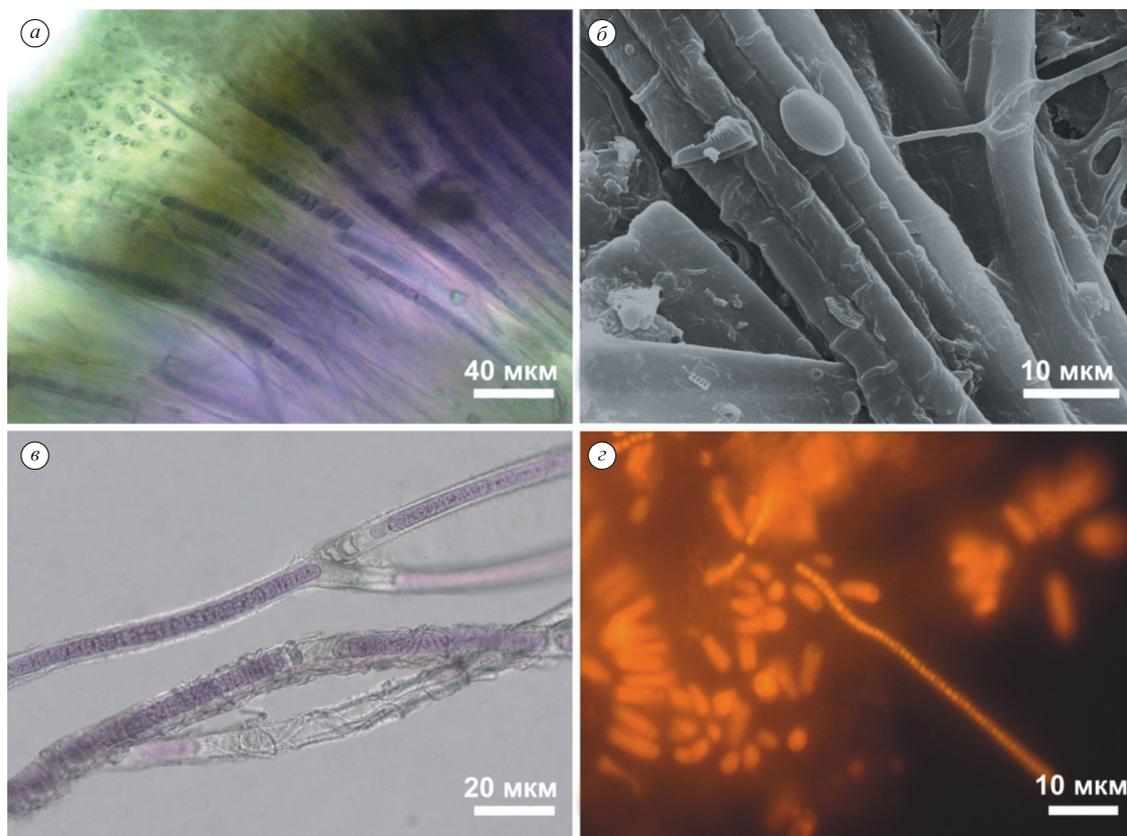


Рис. 40. Доминирующие виды цианобактерий в составе обрастаний:

a — колония *R. rufescens*, *б* — *R. rufescens*, *S. rivulariarum* (стрелка), *в* — *T. limbata*, *г* — *C. fuscus*, *H. Pusilla* (стрелка).
a, *в* — световая микроскопия; *б* — СЭМ; *г* — флуоресцентная микроскопия.

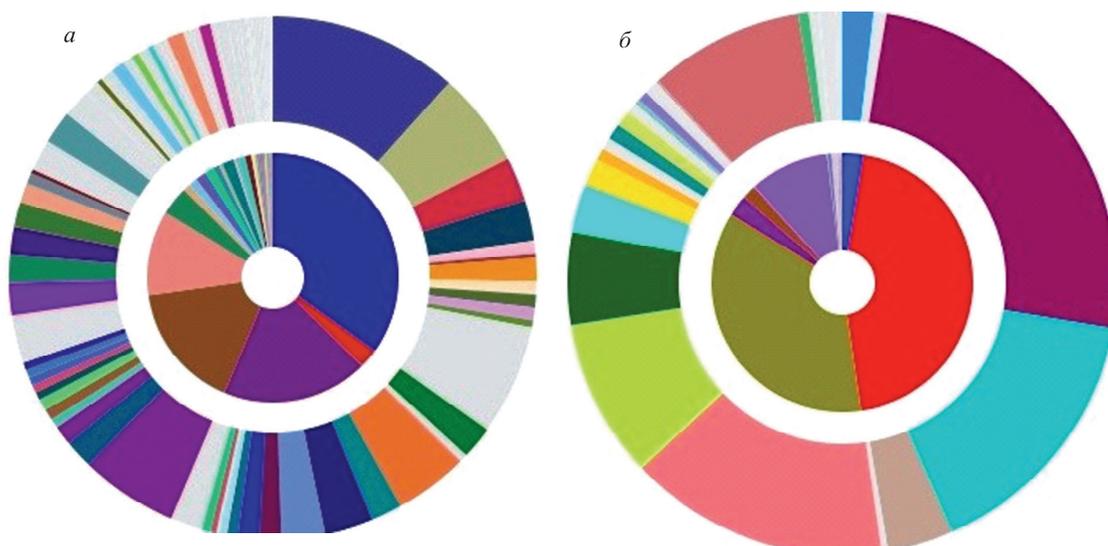


Рис. 41. Таксономическое разнообразие бактериальных сообществ водных экосистем по данным пиросеквенирования фрагмента гена *16S* рРНК (*a* — бактерии в поверхностных осадках содового оз. Соленое; *б* — разнообразие микробного мата из высокотемпературной области щелочной гидротермы Алла).

Внутренний круг: разнообразие ранга «фила». Доминирующие филы: Proteobacteria, Deinococcus-Thermus, Nitrospirae, Chloroflexi, Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Acidobacteria, Planctomycetes, OP9. Внешний круг: разнообразие ранга «вид».