

## Геноми колючки проливають світло на процес еволюції

У лабораторіях університету штату Орегон застосовують новітні технології для виявлення ділянок генів, що лежать в основі адаптації

20 млрд. фрагментів ДНК у 100 дрібних рибах були об'єктом дослідження біологів, які вивчають еволюцію. Після поєднання нових технологій дослідникам тепер стало відомо багато ділянок геномів, які дали змогу деяким популяціям океанських риб, що незалежно сформувалися, адаптуватися до прісної води.



Біологи виявили конкретну ділянку генів, пов'язаних з адаптацією генома популяцій колючки, що живуть у морській воді, до прісноводних озер на Алясці

Відкриття стало можливим у рамках проекту, що фінансується Національним науковим фондом і Національним інститутом здоров'я. Даний вид — триголчаста колючка — було узято з трьох, що не мають виходів до моря прісноводних озер Аляски, та двох океанських популяцій. Цю інформацію вміщено в PLoS Genetics 26 лютого 2010 р. в онлайнній публікації.

Співробітники науково-дослідної лабораторії Орегонського університету і двох незалежних лабораторій повідомили про розроблену ними технологію. Згодом вони порівняли геноми 20 риб, що живуть у грязьових озерах Аляски, та 20 риб солоноводної популяції.

Усі ділянки розташовані уздовж південно-центрального узбережжя Аляски. Дослідники виявили, що всі риби мали дуже схожі ділянки в більшій частині своїх геномів, але з відмінностями у специфічних зонах. ДНК кожної риби має 500 млн. пар основ. Дослідників здивувало, що в неза-

лежно отриманих популяціях було виявлено досить схожі ділянки, адже це свідчить про те, що в риб, які живуть в різних озерах, можуть еволюціонувати одні й ті самі гени, якщо адаптація колючки повторюється. Зараз дослідники зосередили свої зусилля на тому, щоб зрозуміти, які конкретно гени беруть участь у такій адаптації.

«Такий підхід до досліджень, — зазначив Уільям А. Кресько (William A. Cresko), професор біології і член Центру екології та еволюційної біології Орегонського університету, — може бути застосований до інших організмів. Було б цікаво отримати аналогічні результати під час дослідження океанічних риб та їхніх прісноводних родичів, наприклад таких, як нерка червона». «Висновки, представлені на професійних конференціях, є внеском у науково-дослідну діяльність у процесі дослідження інших організмів», — додав він.

Колючки — це маленькі рибки сріблястого кольору, завдовжки два дюйми, вони мешкають у Північній півкулі в океанах і в прісній воді.

«Популяція прісноводної колючки виникла тоді, коли були відкрито й колонізовано нові області, — сказав Кресько. На Алясці є багато озер, що з'явилися тільки близько 10 000 років тому. Вони утворилися в результаті танення льодовиків. І ці рибки, відрізані від солоної води, замість того, щоб померти, дуже швидко і всілякими способами еволюціонували, зокрема зміни відбулися в кістках і лусці, формі щелеп, а також у забарвленні й поведінці. Коли популяція не виявляє своїх ознак і не схрещується з іншою популяцією, вона фактично стає новим видом, а отже, деякі з ділянок ДНК, які ми ідентифікуємо, також можуть виявитися важливими для видоутворення».

Колючки давно привертають увагу біологів своїми складними ритуалами залицяння. Останнім часом вони стали об'єктом досліджень генетичного контролю цієї поведінки, і передує у цих дослідженнях Орегонський університет. Донедавна зусилля було зосереджено на невеликій кількості ознак, на відстежуванні тільки декількох генів. У 2006 р. Кресько визначив завдання досліджень, наголосивши, що для прискорення і здешевлення аналізу ДНК слід сканувати всі геноми. Його гаряче підтримав Ерік Джонсон (Eric Johnson), дослідник інституту молекулярної біології Орегонського університету.

Упродовж трьох наступних років Кресько і Джонсон розробляли методику, яку вони назвали відновлювальним сайтом, пов'язаним з ДНК. Розвиток цих досліджень сприяв зародженню технологічної компанії Floragenex Орегонського університету, яку пов'язують з революцією в дослідженні генома, а саме із секвенуванням і розробленням аналізатора генома — інструменту, відомого як GA2-секвенатор.

«Ми об'єднали дві технології для розроблення послідовності RAD (відновлювального сайту, пов'язаного з ДНК), — зазначив Кресько. Завдяки цьому ми можемо швидко досліджувати цілі геноми і ставити нові питання: чи можемо ми знайти ділянки геномів, змінені у зв'язку з природним добром, і потім порівняти їх з остаточно розвинутою популяцією? Скільки є однакових ділянок і скільки різних?».

«Попередні дослідження, для яких використовували RAD-маркери, було зосереджено на пошуку відмінностей між зразками, отриманими в лабораторії, але багато цікавих питань не можна аналізувати тільки в лабораторії, і багато видів тварин не можуть бути одержані в лабораторії», — додав Джонсон.

Було встановлено, що за допомогою RAD-маркерів можна виявити відмінності між природними популяціями. Також у цих лабораторіях було розроблено нові аналітичні методи для розуміння отриманих результатів. Вони якнайкраще підходять для RAD-маркерів, тому що дають змогу проводити аналіз генома більш якісно порівняно з іншими системами маркерів і одержувати результати ДНК-послідовності з низькою вірогідністю помилок.

У 1964 р. землетрус на Алясці за 4 хв підняв на 10 м декілька прибережних островів. «Ми сподіваємося дізнатися що-небудь нове про цих риб, поки вони все ще розвиваються, від океанської популяції до прісноводної», — зауважив Кресько.

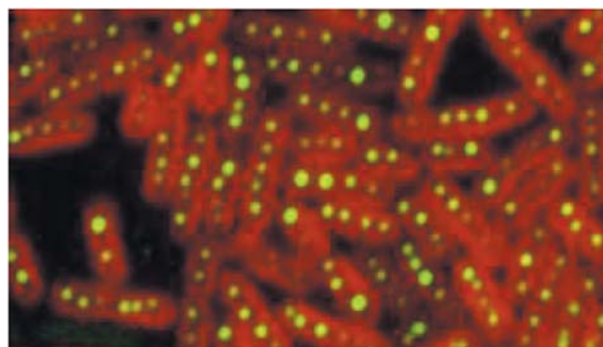
*За матеріалами:*

[http://www.eurekalert.org/pub\\_releases/2010-02/uoo-sgs022310.php](http://www.eurekalert.org/pub_releases/2010-02/uoo-sgs022310.php)

### **Як океанські бактерії перетворюють вуглець на паливо**

Переробка. Повторне використання. Рециркуляція. Утилізація. Ці терміни звучать знову й знову. Коли справа доходить до вуглецю, то виявляється, що він є найнеобхід-

нішим елементом з погляду зміни клімату або природи, для повторного використання і перероблення. Проте лише від нас залежить зменшення його запасів. Учені з Гарвардської медичної школи намагаються вирішити це завдання, дізнатися більше про вуглецевий цикл, тобто про процес, у результаті якого вуглець переміщується з атмосфери в рослини, океани, ґрунт, земну кору і знову надходить в атмосферу.



**Флуоресцентне маркування протеїнів усередині карбоксисом (*carboxysomes*) показує, що ціанобактерії створюють їх у кількості, пропорційній довжині займаного ними простору рівномірно уздовж найдовшої осі**

Одними з найбільш перспективних у цьому циклі є ціанобактерії, що мешкають в океані. Памела Сильвер (Silver), професор Гарвардської медичної школи системної біології, разом з колегами з'ясували, як ці бактерії відновлюють або обробляють вуглець: вони будують мініатюрні заводи усередині себе, перетворюючи вуглець на паливо. Вчені повідомляють, що бактерії створюють такі «заводи» в просторі, виявляючи складні структури, що не часто зустрічаються в одноклітинних організмах. Ці регулярні і передбачувані просторові компартменти підвищують ефективність перероблення вуглецю. У майбутньому розуміння механізмів, які регулюють таку просторову організацію, може сприяти підвищенню ефективності бактерій у процесі отримання вуглецьнейтральних видів палива, таких як біодизель і водень. Ці результати опубліковано в онлайн-версії 5 березня цього року в журналі Science.

Паличкоподібні ціанобактерії є одними з найпоширеніших організмів на Землі. 40% вуглецю у вуглецевому циклі використовується повторно і відновлюється за допомогою цих крихітних істот. Для оброблення вуглецю ціанобактерії будують усередині себе структури на зразок футбольного м'яча, названі карбоксисомами (*carboxysomes*). Ці

невеликі заводи поглинають вуглекислий газ і перетворюють його на цукор, який бактерії використовують для виробництва енергії.

«Океан просто переповнений цими бактеріями. Вивчаючи їх, ми більше розуміємо, як працює земля, — зазначив Сильвер, який також працює на цьому факультеті. — Мене вражає те, що відбувається в океані, і те, чого ми не розуміємо про нього. Океан містить безліч того, що може бути корисним для нас».

Дослідницька група, очолювана співавторами, Девідом Севіджем (David Savage) і Бруно Афонсо (Bruno Afonso), зв'язали флуоресцентні мітки з протеїнами, що беруть участь у побудові карбоксисоми, а потім дослідили мічені бактерії під мікроскопом. Отримані зображення показали, що замість випадкової нумерації і безладного розташування ціанобактерії побудували карбоксисоми в такій кількості, яка пропорційна їхньому розміру, і розташували їх у просторі рівномірно по всій своїй довжині. Це відкриття свідчить про те, що до цих бактерій слід уважніше придивитися. «У нас була думка, що ці бактерії щось на зразок мішка з ензимами, але який був повністю зруйнований», — пояснив Афонсо. Один протеїн, названий парА, діє як своєрідний менеджер усередині бактерій, розташовуючи карбоксисоми в акуратні ряди у вигляді окремого файлу, як виявили дослідники. Коли вони блокували здатність бактерій використовувати протеїн, карбоксисоми були розташовані набагато більш випадковим чином.

«Ціанобактерії, позбавлені парА, були менше пристосовані для виживання», — зауважив Севідж. Хоча бактерійні клітини дикого типу мали відповідне число карбоксисом, які, у свою чергу, оптимізували обробку вуглецю і адекватність, відокремлені бактерії створювали дочірні клітини, чисельність карбоксисом яких від нуля до надлишку. Дочірні клітини з невеликою кількістю або відсутністю карбоксисом ділилися повільніше, а також виробляли до 50% менше вуглецю, ніж клітини з максимальною кількістю органел.

Маркуючи парА в дикому типі бактерій, дослідники виявили цікаву динаміку в протеїні. Тисячі протеїнів парА неодноразово об'єднувалися в групи і швидко переміщувалися від одного кінця бактерії до іншого.

«Подив викликає те, що можна потенційно згенерувати цю регулярність і симетрію від окремого протеїну, — сказав Севідж. — Виходить, що це якимсь чином регулюється динамікою протеїну». Поки що точний ме-

ханізм регулювання відстані розташування парА не розкрито.

У багатьох інших бактерій також є протеїн парА, який, як відомо, розділяє хромосоми у процесі поділу клітин. «Ця робота показує, як бактерії сполучають запасні частини для досягнення аналогічних завдань, таких як організація і сегрегація», — сказав Девід Руднер, доцент кафедри мікробіології і молекулярної генетики, який не брав участі в дослідженні.

Одержані дані можуть допомогти синтетичній біології врешті-решт створити типову бактерію.

«Знання про те, як клітини створюють і використовують спеціалізоване виробництво, схоже на карбоксисоми, відкриває шлях до створення інших видів міні-виробництв, які могли б виконувати корисні функції», — наголосив Річард Лозік, професор молекулярної і клітинної біології Гарвардського університету.

У лабораторії Сільвера вивчають, чи може карбоксисома бути корисною для оптимізації виробництва водню під дією бактерій. Однією з проблем отримання бактерії, яка може синтезувати водень, є те, що ензими, які використовують водень, чутливі до кисню. Карбоксисома може допомогти вирішити цю проблему, оскільки її зовнішня оболонка блокує кисень, захищаючи ензими, що містяться усередині, від токсичної дії.

*За матеріалами:*

<http://www.sciencedaily.com/releases/2010/03/100304142247.htm>

### **Новий підхід до розроблення лікарських засобів. Визначення структури біомолекул в їхньому природному середовищі**

Учені з Центру Гельмгольца і Технічного університету (ТУМ) у Мюнхені під керівництвом професора Майкла Саттлера (Michael Sattler) розробили нову стратегію, яка дозволить їм визначити просторові структури біомолекул у розчині. Цей метод є гнучким і, як правило, його застосовують для отримання структурної інформації про сигнали, що переспрямовують канали у клітині або беруть участь у регуляції експресії генів.

Результати цих розробок висвітлено в онлайн-випуску наукового журналу *Angewandte Chemie*.

Більшість великих протеїнів мають складні просторові структури, в яких ком-

пактні підгрупи зв'язані гнучкими містками. Між цими структурами є достатній простір для молекул і реагентів. Однак у протеїнових кристалах, використовуваних для визначення класичної структури під дією рентгенівських променів, такі структури набагато щільніше упаковані. Ціла низка питань стосується взаємодії цих структур, а питання щодо розуміння механізмів хвороб так само залишаються без відповіді.

Група на чолі з професором Майклом Саттлером (Michael Sattler), директором Інституту структурної біології при Центрі Гельмгольца і керівником Баварського центру ЯМР (ядерного магнітного резонансу) при ТУМ, об'єднала низку існуючих підходів в ефективну стратегію, що дозволяє ученим визначати просторову структуру біомолекул у розчині. В основу цього методу покладено метод біомолекулярної спектроскопії ЯМР. «ЯМР-спектроскопія — це єдиний метод, що дозволяє нам визначити елементи просторової структури біомолекул в розчинах на атомному рівні», — пояснив професор Саттлер.

Коли протеїни або їх комплекси проаналізовано за допомогою ЯМР, спочатку реєструють ряд сигналів, що перекриваються, які мало придатні для обробки. Завдяки чотириетапній стратегії, яку вчені інтегрували в існуюче програмне забезпечення для оцінки результатів вимірювань ЯМР, Саттлер зі своєю групою тепер може розділити сигнали і тим самим отримати структури, близькі до реальних.

На першому етапі нової процедури учені одержують інформацію про структурні елементи. Цю інформацію можна отримати, наприклад, за допомогою рентгеноструктурного аналізу або за стандартного визначення структури методом ЯМР. На наступному етапі з'ясовують, як ці структурні елементи просторово орієнтовані стосовно один одного. Для цієї мети застосовували два різні види інформації, отримані методом ЯМР. Так звані залишкові дипольні приєднання дають інформацію про відносну орієнтацію окремих елементів комплексу. На подальшому етапі учені вводять нітроксильні групи (молекули, що містять неспарений електрон) в різні положення в протеїні. Ці впровадження так званого парамагнітного релаксаційного посилення дозволяють ученим виміряти великі відстані між елементами і тим самим визначити тривимірну структуру протеїнових комплексів.

Група вчених провела такі дослідження на двох структурних елементах факторів сплайсингу U2AF65 людини. Фактор сплай-

сингу відіграє вирішальну роль в регуляції експресії генів і дає можливість утворювати різні протеїни з одного-єдиного гена. Потім структуру комплексу можна буде визначити, комбінуючи різні дані ЯМР. Результати підтвердили, що структура в розчині істотно відрізняється від структури, визначеної за допомогою рентгенівської кристалографії.

«Наш метод, як правило, застосовують до широкого різноманіття протеїнових комплексів, навіть якщо вони дуже великі і утворюють численні піделементи. Це дозволяє вивчати біологічні механізми регулювання, в яких слабкі і перехідні взаємодії відіграють важливу роль. Протеїни — це не жорстка структура. Вони є гнучкими, що дозволяє їм зв'язувати і звільняти реагенти. Такі динамічні ефекти мають важливе значення для визначення незліченних молекулярних біологічних процесів», — пояснив професор Саттлер.

Нова процедура особливо корисна у галузі наукових досліджень характеристики структури і взаємодії протеїнів та реагентів і дає інформацію про те, яким чином розвиваються метаболічні процеси і як можна виявляти хвороби, створюючи наукову основу для розроблення нових ліків.

*За матеріалами:*

<http://www.sciencedaily.com/releases/2010/02/100225084636.htm>

### **Сестрин — оборотний інгібітор TOR, що перешкоджає розвитку вікової патології**

Вчені з університету Сан-Дієго у Каліфорнії, які працюють під керівництвом професора фармакології Майкла Каріна (Michael Karin), ідентифікували протеїн сестрин (Sestrin), що є інгібітором процесів старіння і розвитку асоційованої з віком патології у дрозофіл. Вони також продемонстрували, що людський аналог сестрину зі схожими структурою і біохімічною функцією необхідний для функціонування сигнального механізму, який виконує ключову роль в регуляції процесів старіння і метаболізму загалом.

Протеїнами родини сестринів є малі протеїни, що їх у великих кількостях синтезують клітини багатьох організмів у періоди стресу. Функції цих протеїнів залишалися загадкою доти, доки група професора Каріна не встановила, що вони є активаторами аденозинмонофосфатзалежної протеїнкінази

(AMP-dependent protein kinase, АМПК) й інгібіторами іншої протеїнкінази, так званої «мішені рапаміцину» (Target of Rapamycin, TOR). Ці два ензими є ключовими компонентами сигнального механізму, що виконує функцію центрального регулятора процесів старіння і метаболізму у різних модельних організмів, зокрема у круглих черв'яків *Caenorhabditis elegans* і плодових мух дрозофіл (*Drosophila melanogaster*), а також у ссавців.

АМФ-залежна протеїнкіназа активується за умов обмеження калорійності раціону — стану, що уповільнює процеси старіння, тоді як активність «мішені рапаміцину», навпаки, характерна для стану переїдання, що прискорює процеси старіння. Активація першого ензиму пригнічує функціонування другого, а здатність препаратів, які відповідним чином впливають на їх роботу, уповільнювати процеси старіння продемонстрована на низці модельних організмів, зокрема ссавців. Учені довго не могли відповісти на питання, яким чином організму вдається підтримувати баланс активності цих двох ензимів, порушення якого призводить до передчасного старіння. Крім того, наявність трьох окремих генів, що кодують протеїни родини сестринів у ссавців, ускладнювала вивчення їхніх функцій.

У своїй останній роботі автори скористалися тим фактом, що у мух дрозофіл за наявності лише одного гена сестрини сигнальний механізм АМПК-TOR функціонує так само, як аналогічний механізм ссавців. За допомогою комплексу генетичних методів вони інактивували у дрозофіл ген, що вивчається, і виявили, що, незважаючи на відсутність аномалій розвитку, у таких комах спостерігалася знижена активність АМФ-залежної протеїнкінази і гіперактивність мішені рапаміцину, що підтвердило ключову роль сестрини у регуляції сигнального механізму, що вивчався. І, що ще важливіше, спричинений відсутністю експресії гена сестрини біохімічний дисбаланс викликав у порівняно молодих комах розвиток низки типових вікових патологій, зокрема накопичення жиру, серцеву аритмію і дегенерацію м'язової тканини.

Після цього дослідники продемонстрували, що додавання у корм генетично модифікованих дрозофіл препаратів, які посилюють активність АМФ-залежної протеїнкінази або інгібують «мішень рапаміцину», запобігає розвитку більшості симптомів раннього старіння. Вони також встановили, що надмірна активація «мішені рапаміцину»

порушує механізм автофагії, за допомогою якого клітини утилізували ушкоджені органи, зокрема мітохондрії. У міру старіння ефективність функціонування мітохондрій падає, і вони починають продукувати велику кількість активних форм кисню (вільних радикалів), що призводить до ушкодження тканин і їх передчасного старіння. Ці процеси були найбільш помітні в серцевому і скелетному м'язах, клітини яких споживають багато енергії і, відповідно, містять величезну кількість мітохондрій. Додавання в корм комах вітаміну Е, що має антиоксидантні властивості й нейтралізує вільні радикали, запобігало передчасній дегенерації серцевої та скелетної мускулатури.

У майбутньому вчені планують розпочати вивчення участі протеїнів родини сестринів у регуляції процесів старіння і метаболізму ссавців. Вони також планують перевірити, чи можуть дефекти експресії генів, що кодують ці протеїни, пролити світло на незрозумілі на сьогодні механізми розвитку багатьох асоційованих з віком дегенеративних захворювань.

За словами професора Каріна, можливо, коли-небудь аналоги сестринів можна буде використовувати не тільки для профілактики вікової дегенерації тканин, але й для лікування деяких захворювань, зокрема таких, як хвороба Альцгеймера та саркопенія.

*За матеріалами:*

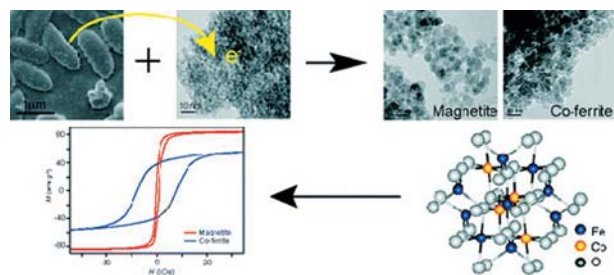
<http://www.sciencemag.org/cgi/content/short/327/5970/1223>

**Використання позаклітинного бактерійного виробництва нанорозмірного фериту кобальту з експлуатаційними магнітними властивостями**

Група дослідників з Манчестерського університету винайшла простий спосіб виробництва мікроскопічних магнітів. Учені впевнені — їхній «товар» стане в пригоді не тільки в медицині.

Зазвичай для цього використовують неекологічні й дорогі методи виробництва. Англієць ж придумав, як отримувати магніти простим природним способом. Для цього потрібно лише взяти залізовідновлювальні бактерії, які живуть в ґрунті і осадових породах. Ці мікроорганізми в ході свого життєвого циклу виробляють наночастинки оксиду заліза з магнітними властивостями

не гіршими, ніж у створених людиною. Ці бактерії живуть у бідних на кисень середовищах і переробляють окиснені метали.



#### Схема «роботи» бактерій.

Кристалічна структура  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , а також магнітний гістерезис магнітів біологічного походження (червоний) і фериту кобальту (синій).

Чим ширша петля, тим вища опірність розмагнічуванню (ілюстрація ACS Nano)

Ученим вдалося виростити колонію *Geobacter sulfurreducens* (їх неважко отримати, і вони легко розмножуються), яка допомогла їм створити досить велику кількість наноманітів при кімнатній температурі. Зазначимо, що існуючі методи виробництва аналогічних частинок потребують часом використання температури 1 000 °С.

Подальша спільна робота з фахівцями з Бірмінгема і Кардіфа мала наслідком появу методики, що дозволяє контролювати розміри і покращувати магнітні властивості вироблених наноб'єктів. Зокрема, біологи додали в «корм» бактерій кобальт, марганець і нікель та отримали таким чином мініатюрні магніти, що містять ці метали.

«Ця робота — прекрасний приклад створення біологічно нешкідливого, енергетично ефективного методу отримання наноманітів для різноманітних цілей», — зазначив професор Річард Патрік (Richard Patrick).

За матеріалами:

[http://www.eternalmind.ru/index.php?option=com\\_content&task=view&id=2553&Itemid=1](http://www.eternalmind.ru/index.php?option=com_content&task=view&id=2553&Itemid=1)

### Стовбурові клітини легко перетворюються на плюрипотентні без використання вірусів

Дослідники з медичної школи Стенфордського університету (США) розробили досить ефективну технологію перетворення клітин, в якій для перенесення генетичного матеріалу використовують міні-кільця ДНК.

Оскільки запропонована методика проста й відносно безпечна, автори сподіваються на її швидкий офіційний розгляд і затвердження в Управлінні з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів та медикаментів. «Для лабораторій не становитиме труднощів перейти на нашу технологію, — вважає учасник дослідження Майкл Лонгейкер (Michael Longaker). — І тоді ми ще на крок наблизимось до створення системи практичної регенеративної медицини».

У своїх дослідках учені перетворювали жирові стовбурові клітини людини на індуковані плюрипотентні стовбурові клітини (ІПСК). Ефективність міні-кільця ДНК зумовлена тим, що вони містять тільки чотири необхідних для перепрограмування клітинного гена і один ген зеленого флуоресцентного протеїну, який дозволяє оцінювати результати дослідження. Більші й частіше використовували фрагменти ДНК — плазмідні — містять ще й бактерійну ДНК, що пов'язано з конфліктами з природною захисною системою організму і знижує вірогідність проникнення в клітини. Крім того, в міні-кільцях гени демонструють вищий рівень експресії.

У разі використання міні-кільця експресія зеленого флуоресцентного протеїну спостерігалась у 10,8% всіх стовбурових клітин, а у випадку застосування плазмід ефективність досягала лише 2,7%. Дослідники відокремили ці 10% клітин і ще двічі — на 4-й і 6-й день експерименту — обробили їх за допомогою міні-кільця. Через 14–16 днів з'явилися перші скупчення клітин, що нагадують колонії ембріональних стовбурових клітин, причому деякі з них вже не експресували флуоресцентний протеїн.

Такі «нефлуоресцентні» скупчення, за словами учених, демонстрували всі властивості ІПСК: експресію генів ембріональних стовбурових клітин, наявність відповідних параметрів метилування ДНК і здатність формувати тератоми (пухлини, що складаються з тканин, які відсутні у відповідних місцях здорового організму) зі введенням їх під шкіру мишей. Автори також підтвердили безпеку методики, переконавшись у тому, що міні-кільця не інтегрувалися в ДНК стовбурових клітин.

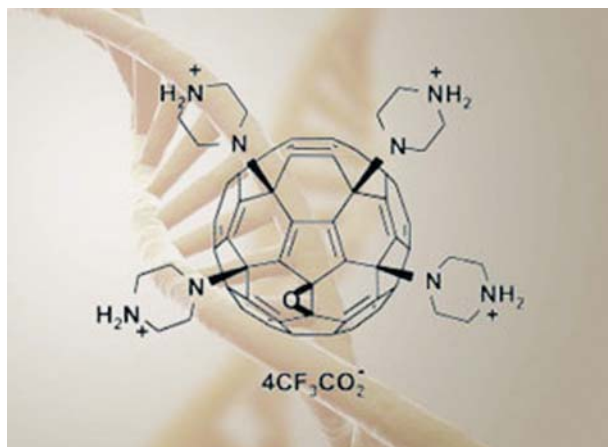
Дослідникам вдалося створити в цілому 22 нові лінії ІПСК з жирових стовбурових клітин і фібробластів. Результуюча ефективність технології становила близько 0,005%, що, звичайно, нижче, ніж у «вірусних» методів (0,01–0,05)%, але вище, ніж у традиційних плазмідних.

Варто відзначити, що популярність потенційно небезпечних з генетичної точки зору методик, що використовують віруси, поступово падає.

За матеріалами:  
[http://www.eternalmind.ru/index.php?option=com\\_content&task=view&id=2489&Itemid=1](http://www.eternalmind.ru/index.php?option=com_content&task=view&id=2489&Itemid=1)

### Доставлення генів *in vivo* за допомогою катіонного тетраамінофулерену

Дослідники з Японії продемонстрували можливість ефективного доставлення генів в організмі лабораторних мишей за допомогою фулеренів. Новий підхід може усунути обмеження, властиві іншим експериментальним агентам для доставлення генів, наближаючи можливість розроблення бездоганно працюючих і безпечних методів генної терапії і, можливо, вакцинації ДНК.



Будова тетраамінофулерену

Доставлення генетичного матеріалу в клітини є перспективним у боротьбі з низкою захворювань. На жаль, каменем спотикання в розробленні цього напрямку медицини є наявність безпечних і ефективних агентів доставлення генетичного матеріалу. Раніше як системи, що транспортують гени в клітину, використовували вектори вірусного походження і невірусні ліпідні вектори. Однак використання вірусних векторів може викликати небажаний імунний відгук організму, а невірусні вектори типу «ліпід-ДНК» недостатньо ефективні і можуть виявляти цитотоксичність.

Єічі Накамура (Eiichi Nakamura) з колегами з Університету Токіо розробив і успішно продемонстрував спосіб доставлення гена

зеленого флуоресціюючого протеїну [enhanced green fluorescent protein genes (EGFP)] та гена інсуліну 2 в організм мишей за допомогою розчинного у воді катіонного тетраамінофулерену. Накамура наголосив, що його робота є першим прикладом того, що засобом доставлення фрагмента ДНК в живий організм можуть бути не тільки віруси і комплекси ліпід-ДНК, але й похідні фулерену.

Скріплення плазміди ДНК, що кодує кожен ген (в окремих експериментах) з вектором на основі тетраамінофулерену здійснювалося за рахунок заряд-зарядових взаємодій, ініційованих протонуванням аміногруп фулеренового вектора. Катіонний характер переносника сприяє його конденсації з ділянкою ДНК і захищає нуклеїнову кислоту від ензиматичного гідролізу *in vivo*. Після проходження мембрани вектор ацилюється, втрачає заряд, внаслідок чого молекула ДНК вивільняється.

Довівши на лабораторних мишах, що система на основі фулеренів може доставляти гени в організм *in vivo*, дослідники вирішили порівняти продуктивність запропонованого ними вектора з відомим ліпідним вектором — ліпофектином (Lipofectin). Було виявлено, що тетраамінофулерен ефективніший у доставленні ДНК в печінку і селезінку порівняно із системою на основі катіонної ліпосоми. Більш того, на відміну від ліпофектину фулереновий вектор не виявляє гострих токсичних властивостей стосовно печінки або нирок, можливо — завдяки добрій розчинності у воді.

Баладжи Ситараман (Balaji Sitharaman), фахівець з нанобіотехнології з Університету Стогні Брук (Нью-Йорк, США), припускає, що новий метод доставлення генів уможливить застосування фулеренів *in vivo*, наприклад, для доставлення генів, відповідальних за експресію інсуліну, для зниження концентрації глюкози в крові та лікування діабету. Накамура додав, що його група пропонує працюючу альтернативну систему доставлення існуючим ліпідним векторам для генної терапії, яку, до того ж, простіше синтезувати, ніж ліпідні вектори.

Аліасгер Салем (Aliasger Salem), який розробляє системи доставлення генів в Університеті Айови вважає, що будь-які нові ефективно працюючі вектори заслуговують на схвалення. Проте він зазначив, що робота японських колег не дозволяє порівняти властивості фулеренового вектора з векторами на основі аденовірусів, що класично застосовуються в генній терапії, оскільки таке

порівняння просто не було зроблено, додавши, що для практичного використання фулеренів як векторів ще необхідні довготривалі дослідження.

*За матеріалами :*

[http://www.eternalmind.ru/index.php?option=com\\_content&task=view&id=2530&Itemid=1](http://www.eternalmind.ru/index.php?option=com_content&task=view&id=2530&Itemid=1)

### **Дослідження показують, що віруси змінили еволюцію людини**

Італійські вчені заявили, що вони знайшли свідчення того, як віруси допомогли змінити хід людської еволюції, і що їхнє відкриття може допомогти в розробленні ефективніших лікарських засобів і вакцин. Вони виявили понад 400 різних мутацій у 139 генах, які відіграють певну роль в ризику зараження вірусами, — відкриття, яке може також допомогти з'ясувати, чому деякі люди проходять через сезон грипу неушкодженими, тоді як інші, схоже, інфікуються багаторазово.

Дослідники з науково-дослідного Інституту IRCCS, Міланського університету та Міланського політехнічного інституту проаналізували геноми 52 популяцій з різних частин світу, де має вплив широкий спектр вірусів упродовж більш ніж 200 000 років людської еволюції. Дослідники, роботу яких опубліковано в PLoS Genetics Journal, вивчили місця, де клімат був сприятливий для вірусів, зокрема теплі й вологі регіони Африки.

Ні для кого не є секретом, що віруси вплинули на карту генома людини — дослідження показали, що 8% генома складається з так званих ендемічних ретровірусів, які включають свій генетичний матеріал в наш. Італійські вчені шукали в геномі сліди інфекцій, пов'язуючи їх з генетичною мінливістю, — метод, що на їхню думку, є адекватним для знаходження генів, зчеплених з вірусами. Вони виявили більше генних мутацій там, де населення було заражене різними вірусами. «Ми встановили, що ці гени були відібрані і, виходячи з цієї концепції, можна екстраполювати, що багато які з цих генів можуть зробити вас більш-менш схильними до дії вірусів», — зазначила в телефонному інтерв'ю Мануела Сирон, яка очолювала цю роботу.

Вона зауважила, що результати лише попередні і мають бути відтворені іншими ученими й перевірені в лабораторних умовах.

На її думку метод, аналогічний тому, яким скористалася група дослідників, можна було б застосовувати для знаходження генів, які підвищують або знижують ризик зараження інфекційними захворюваннями від інших агентів, зокрема бактерій.

*За матеріалами:*

<http://www.plosgenetics.org/article/info:doi/10.1371/journal.pgen.1000849>

### **Біоінформатика і світ, що розвивається**

Біоінформатика — це наука управління й аналізу у сфері біологічної інформації. Попри те, що всі галузі сучасної біології використовують комп'ютери, молекулярна біологія та генна інженерія взагалі не могли б існувати без них. Враховуючи певні дослідження і комп'ютерну інфраструктуру, країни, що розвиваються, можуть мати відносно легкий доступ до продуктів біоінформатики. Проте майбутнє використання цієї технології залежить від наявності знань у галузі біоінформатики, здобутих із відкритих джерел.

Молекулярна біологія досліджує структуру генів і протеїнів, які є макромолекулами, що складаються з декількох тисяч атомів. Оскільки неможливо намалювати таку складну картину за допомогою олівця і паперу, то для розшифрування їхньої структури і планування експериментів необхідні комп'ютери. Останніми роками біотехнологія досягла значного прогресу, що дозволило вченим змінити генетичну структуру для розроблення, наприклад, нових ліків або виведення рослин, стійких до сільськогосподарських шкідників.

Одним з основних засобів досягнення такого прогресу є біоінформатика. Це збірна назва, яка стосується комп'ютерного підходу в таких галузях, як молекулярна біологія, біотехнологія, медицина і сільське господарство. За словами провідного біолога Гуда (Lee Hood): «Біотехнологія — це промислове використання біологічної інформації».

Організація економічного співробітництва і розвитку (ОЕСР) назвала біоінформатику «меганаукою», стратегічною дисципліною, яка формує основу біомедицини. Це пояснюється тим, що, по-перше, біоінформатика універсально застосовується до молекулярної біології (дисципліни, яка лежить в основі багатьох нових галузей біологічних досліджень) і, по-друге, вона



успішно об'єднала комплексні експериментальні та бібліографічні бази даних, створивши тим самим взірцеву наукову інфраструктуру, яка однаковою мірою застосовна як до біомедичних, так і сільськогосподарських досліджень. За цими двома основними причинами біоінформатику можна вважати комутатором різних наукових галузей, оскільки вона дозволяє легко застосовувати висновки, отримані стосовно однієї галузі, до іншої.

### *Що створює біоінформатика?*

Біоінформатика створює банки даних, зокрема здійснює збір даних стосовно протеїнових послідовностей, необхідних для біології й біотехнології, а також комп'ютерне програмне забезпечення для аналізу. Користувачі, передусім біотехнологи та академічні біологи, можуть вибирати, які з цих складових слід встановити на локальній комп'ютерній мережі або здійснити доступ до них через Інтернет, використовуючи загальнодоступні банки даних.

На сьогодні біоінформатика охоплює декілька основних типів даних:

- **Послідовність і структура генів та протеїнів.** Послідовність це простий спосіб представлення макромолекули. Структура генів, які кодують послідовність амінокислот у протеїнах, створюється в цій формі секвенування генома. Протеїнові послідовності, як правило, знаходять за допомогою комп'ютерного аналізу даних геномів.

- **3-D молекулярні структури.** Їх отримують шляхом фізичного вимірювання (рентгенівського опромінення, ядерного магнітного резонансу) у поєднанні з комп'ютерним моделюванням.

- **Структури генома і функції.** Геном організму містить весь свій генетичний матеріал. Інформація про структуру і функцію генома є одним з основних описів, які постійно оновлюються і поповнюються новою інформацією, включаючи посилення на інші бази даних.

- **Бібліографічні дані,** такі як тези наукових статей. Кількість даних значно зростає, особливо після появи проектів геномів, зокрема програми секвенування генома людини. На цей час такі дані зібрані в невеликій кількості великих державних банків даних і доступні через Інтернет.

- **Інформаційно-обчислювальне обслуговування,** включаючи обробку даних і обслуговування баз даних, є першим і найголовнішим завданням біоінформатики. Значна частина даних створюється і фінансується

державою під час виконання наукових досліджень і зберігається в державних банках даних. Анотація необроблених даних, що означає додавання функціональних та інших описів, є важливою і трудомісткою частиною цієї роботи і значною мірою виконується урядовими дослідницькими центрами, описаними нижче. Іншим значним підрозділом біоматематики або біокомп'ютеризації є розроблення спеціальних алгоритмів для оцінки і аналізу цих даних. Найчастіше дослідницькі завдання в цій проміжній галузі стосуються пошуку подібності послідовності для знаходження протеїну або гена, що відповідає новій послідовності, та оброблення бази даних.

### *Біоінформатика в лабораторії*

Використання комп'ютерів у біології починається в лабораторії, наприклад для планування того, який вигляд матиме молекула ДНК і як вона поєднуватиметься з декількома сотнями наявних ензимних реагентів. Для виконання відносно простого завдання отримання точних фрагментів рестрикції ДНК слід знайти один або два ензими, узяти десь біля кінців потрібного фрагмента, не вирізуючи при цьому сам фрагмент. Один з таких ензимів може розрізати ділянку ДНК на декілька сотень разів менші фрагменти, залежно від послідовності ділянки ДНК.

Комп'ютер може перерахувати всі можливі фрагменти, які можуть бути отримані, і запропонувати ензимні комбінації, а також протокольний запис такого експерименту.

Складнішим є завдання, що полягає в характеристиці генної послідовності, отриманої в ході такого експерименту. Із цією метою біолог виконує пошук у базі даних з декількох із загальнодоступних і часто оновлюваних баз даних, доступних в Інтернеті. Генна послідовність порівнюється з послідовностями в базі даної ДНК, результатом чого є рейтинговий список «хітів» для найбільш схожих послідовностей, знайдених у базі даних. Зазвичай досить мати всього декілька аналогічних послідовностей прогнозування з високим ступенем точності властивостей і, отже, природної функції нового гена або протеїну. Якщо в банку даних не виявлено аналогічних послідовностей, тоді складніші інструменти, такі як пошук структури, можуть дати змогу отримати характеристику для прогнозування властивостей невідомих генів або протеїнів. Більшість сучасних досліджень у молекулярній біології використовують ці методи.

### **Організації, що відіграють ключову роль, та майнові обмеження**

Біоінформатику широко використовують в університетах, суспільних некомерційних установах і промисловості. Управління та щоденні оновлення суспільних банків даних здійснює низка установ у співпраці з Європейським інститутом біоінформатики (EBI), Велика Британія, Національним центром біотехнологічної інформації (NCBI) Національного інституту здоров'я (NIH), США, а також з Банком ДНК (DDBJ), Японія. Крім того, декілька академічних груп, таких як Швецький інститут біоінформатики (SIB), Мюнхенський інформаційний центр для секвенування протеїнів (MIPS) і Центр Сенгера (Велика Британія), не тільки видають дані, але й роблять внесок в їх анотацію.

Наприклад, у NCBI створено складну систему доступу, яка дає змогу проводити як пошук схожості, так і отримання даних. Ці дані перетинаються з іншими базами даних, і таким чином користувачі у всьому світі можуть вільно переміщатися між відповідними послідовностями, структурами і бібліографічними даними в мережі Інтернет. Напевно, система NCBI є кращим прикладом комплексної наукової інфраструктури, яка може бути безпосередньо використана дослідниками, не підготовленими в галузі біоінформатики. Пошукові програми і багато засобів зі створення бази даних були спочатку розроблені NCBI, що також є куратором загальнодоступних банків даних послідовностей у США. Бібліографічна база даних (MEDLINE) бере початок від основного інституту NCBI, Національної медичної бібліотеки. Результатом є комплексна система, яка дає можливість проводити дослідження складних питань шляхом перегляду через мережу перехресних посилань баз даних. Багато академічних груп підтримують основні Інтернет-сайти з біоінформатики, унаслідок чого більшість нових методів, розроблених групами біоматематиків, стали доступними для загального користування і в країнах, що розвиваються. Проте настання ери геноміки спонукало багато великих біотехнологічних, фармацевтичних і сільськогосподарських фірм створювати відділи, що займаються біотехнологією і підтримують відповідні системи біоінформатики в закритих обчислювальних середовищах. Це потребує не тільки великих коштів, але й висококваліфікованого персоналу з інформатики. Основна мотивація — добування кожної унції корисної інформації з послі-

довності даних до того, як вона стане надбанням громадськості й конкуруючі фірми зможуть застосувати її.

Складність завдань біоінформатики зумовила появу нових форм співпраці в галузі досліджень і розробок (R&D). Відомо, що добре підготовлені фахівці з біоінформатики, залишивши геном-проекти, заснували спеціалізовані компанії з біоінформатики. Нові компанії, як правило, ґрунтуються на знаннях, набутих з капіталом, використовуваним для придбання необхідного устаткування. Вони пропонують свої послуги великим компаніям, які мають свої власні дані геномів, але вважають за доцільне не створювати укомплектовані відділи біоінформатики. Lion Bioscience (Німеччина) є типовим прикладом нового стилю компаній, що пропонують послуги в галузі оброблення, а також формування даних. Самі по собі знання з біоінформатики не обмежуються патентуванням. Більшість алгоритмів є відкритими, і більшість із кращих початкових кодів програмного забезпечення перебувають у вільному доступі. Спеціалізовані знання невеликих компаній з біоінформатики спираються в основному на фактичну компетентність, наприклад, сумісність відомих алгоритмів і програм у великих системах, придатних для масової обробки даних. Патентоспроможність і доступність даних про послідовності біополімерів є питаннями, не пов'язаними безпосередньо з біоінформатикою. Хоча велика частина даних про послідовності доступна суспільним базам даних, існують також власні дані, наприклад, бази даних маркерних експресивних послідовностей (ESTs). Це короткі послідовності ДНК, які визначають послідовність протеїнів. Компанії отримують інформацію від цих доступних баз даних ESTs, але тільки за окрему плату.

### **Чи є біоінформатика доступною для країн, що розвиваються?**

Загальнодоступні ресурси біоінформатики, такі як банки даних і програмні засоби забезпечення, які мають вирішальне значення для біотехнологічних проектів, сьогодні доступні через Інтернет. Для того, щоб ними користувалися вчені, потрібно мати тільки комп'ютер і підключення до Інтернету. Якщо ці умови виконуються, становище біологів у країнах, що розвиваються, нічим не відрізняється від становища академічних біологів у промислово розвинених країнах.

Сучасні дослідження з біоматематики не потребують додаткових ресурсів порівняно

з будь-якою іншою галуззю комп'ютерної науки, майже всі процеси можуть бути ефективно розроблені і змодельовані на персональному комп'ютері або робочій станції. За умови, якщо підготовлено основну інфраструктуру, біоматематика може бути рекомендована для університетів у країнах, що розвиваються, як сучасна і перспективна тема досліджень, що не вимагає надмірних ресурсів.

Проте цей крок від теоретичної біоматематики до прикладної біоінформатики з метою створення програмного забезпечення не є простим. Для нього потрібен сприятливий клімат R&D, який створює місцеві потреби в таких дослідженнях, а також відповідну інфраструктуру комп'ютерних наук. В даний час біоінформатика з успіхом застосовується тільки в тих країнах, що розвиваються, де дотримуються цих вимог, таких як Бразилія, Китай, Індія, Мексика і Південна Африка. Наприклад, Південно-Африканський національний інститут біоінформатики (SANBI) в Кейптауні розробив Угруповання відмітних ознак послідовності (STACK). Ця нова база даних і система запитів, що стосуються зображених генів людини, має велике значення для біотехнологічних компаній, що займаються розробленням ліків.

*За матеріалами:*

<http://www.biotech-monitor.nl/new/index.php?link=publications>

**Клітини фоторецепторів  
можна отримувати з клітин шкіри.  
Одного дня вони зможуть допомогти  
відновити зір сліпим**

Дослідникам з Університету Сіетла, штат Вашингтон (UWS), вдалося створити клітини фоторецепторів, використовуючи диференційовані клітини шкіри дорослої людини, що є принципово новим науковим досягненням, успішно випробуваним на мишах. У цих експериментах сітківки гризунів «оснащені» таким типом клітин.

Дослідження показало, що фоторецептори зазвичай поєднувалися з навколишньою тканиною, і це дає великі надії, що одного дня такий вид лікування може бути також застосований і до людей.

Нові світлочутливі клітини сітківки можуть бути використані для лікування таких захворювань, як пігментний ретиніт і дегенерація жовтої плями, від яких потерпають

мільйони людей у всьому світі. Для вирішення цього завдання група дослідників з UWS зайнялася технологією індукованих плюрипотентних стовбурових клітин, що дозволило їм повернути повністю диференційовані клітини шкіри до початкового стану. Це було досягнуто маніпулюванням всього лише декількома генами в оригінальній групі клітин. У своєму плюрипотентному стані ці клітини можуть видозмінюватись на будь-який тип клітин в організмі людини, включаючи кістки, хрящі, м'які тканини і нервові клітини. Томас Рекс, керівник групи в UWS, не вперше намагається отримати фоторецептори зі стовбурових клітин. Проте його перші експерименти було проведено з використанням ембріонального різноманіття. Новий підхід працює краще з двох причин. По-перше, можна уникнути етичних проблем, пов'язаних з ембріональними стовбуровими клітинами, а по-друге, клітини можна отримати безпосередньо з тіла пацієнта. Це означає, що вдасться уникнути всіх можливих проблем, пов'язаних із несумісністю, оскільки всі клітини тіла мають однаковий генетичний матеріал. Загалом небезпека того, що імунна система пацієнта відторгне імплантовані клітини, дорівнює нулю. На додаток до практичного застосування на людині нові клітини дадуть дослідникам змогу вивчати лікарські препарати, а також проводити більш поглиблені дослідження хвороб, які призводять до дегенерації сітківки. Особливо корисними вони будуть для пацієнтів з мутацією, яка призвела до розвитку такого стану, оскільки клітини шкіри міститимуть весь необхідний генетичний матеріал.

Дослідники могли б ізолювати ген або комбінацію генів, що провокують такий патологічний стан, а також розробити нові методи лікування. «Не існує ефективних ліків для повільної деградації фоторецептора. Одна з причин того, що в нас більше нема молекул, які ми могли б перевірити, полягає в тому, що немає належних експериментальних моделей на тваринах для багатьох захворювань сітківки ока людини», — наголосив нейробіолог Томас Рекс, слова якого цитує Technology Review.

*За матеріалами:*

<http://news.softpedia.com/news/Photoreceptor=Cells=Possible=from=Skin=Cells=133935.shtml>

*Матеріал підготувала  
О. С. Виноградова*