



ОСНОВЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ

Лекция 7

**Горизонты науки. Ч.3
Синтетическая биология.**

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА И ИСТОЧНИКИ

Синтетическая жизнь

/ Уэйт Гиббс // http://wsyachina.narod.ru/biology/handmade_life_2.html

Рукотворная жизнь

/ А. Чубенко // http://wsyachina.narod.ru/biology/handmade_life_1.html

СЛОВАРЬ

Ксенобиология – раздел синтетической биологии, изучающий создание и управление биологическими устройствами и системами

КсНК (XNA) – ксенонуклеиновые кислоты

Ксенозимы (XNAzymes) – молекулы способные специфически катализировать некоторые реакции (биохимические)

нкАА – неканонические аминокислоты



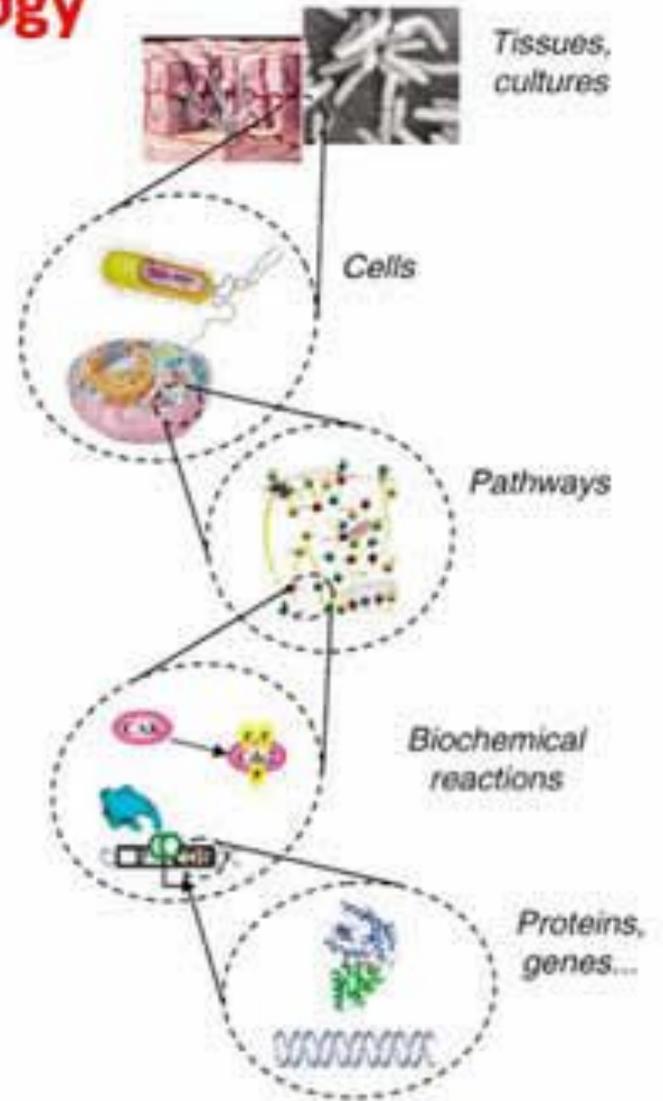
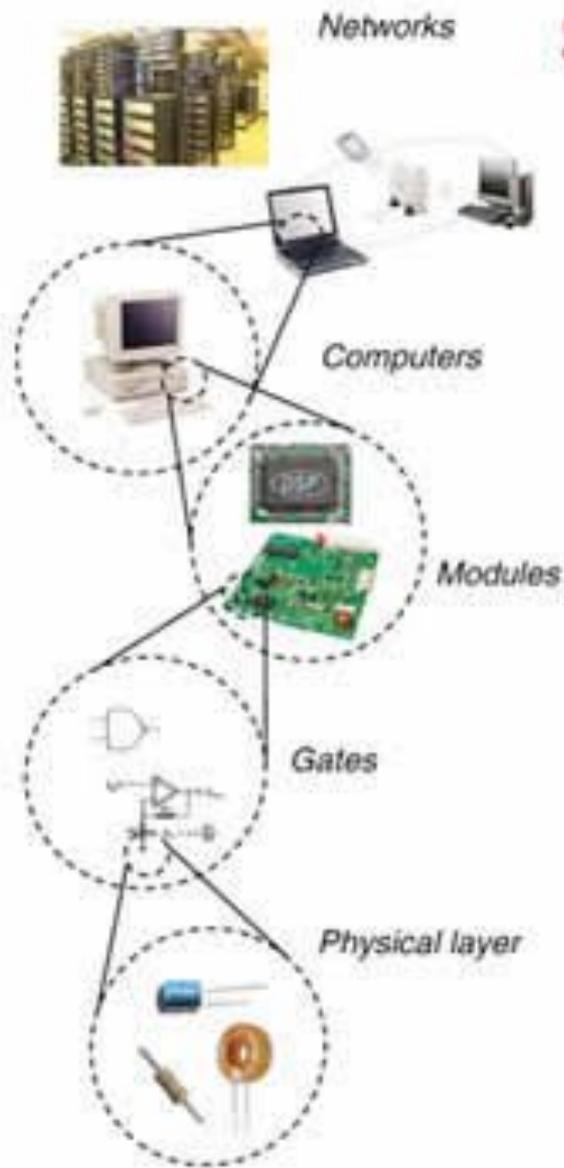
ОСНОВЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ.
СИНТЕТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ.
ВВЕДЕНИЕ В ПРОБЛЕМУ.

СИНТЕТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ. ТЕРМИН.

это новая область биологии (направление генной инженерии), изучающее возможности проектирования и построения новых (несуществующих в природе) биологических функций и систем

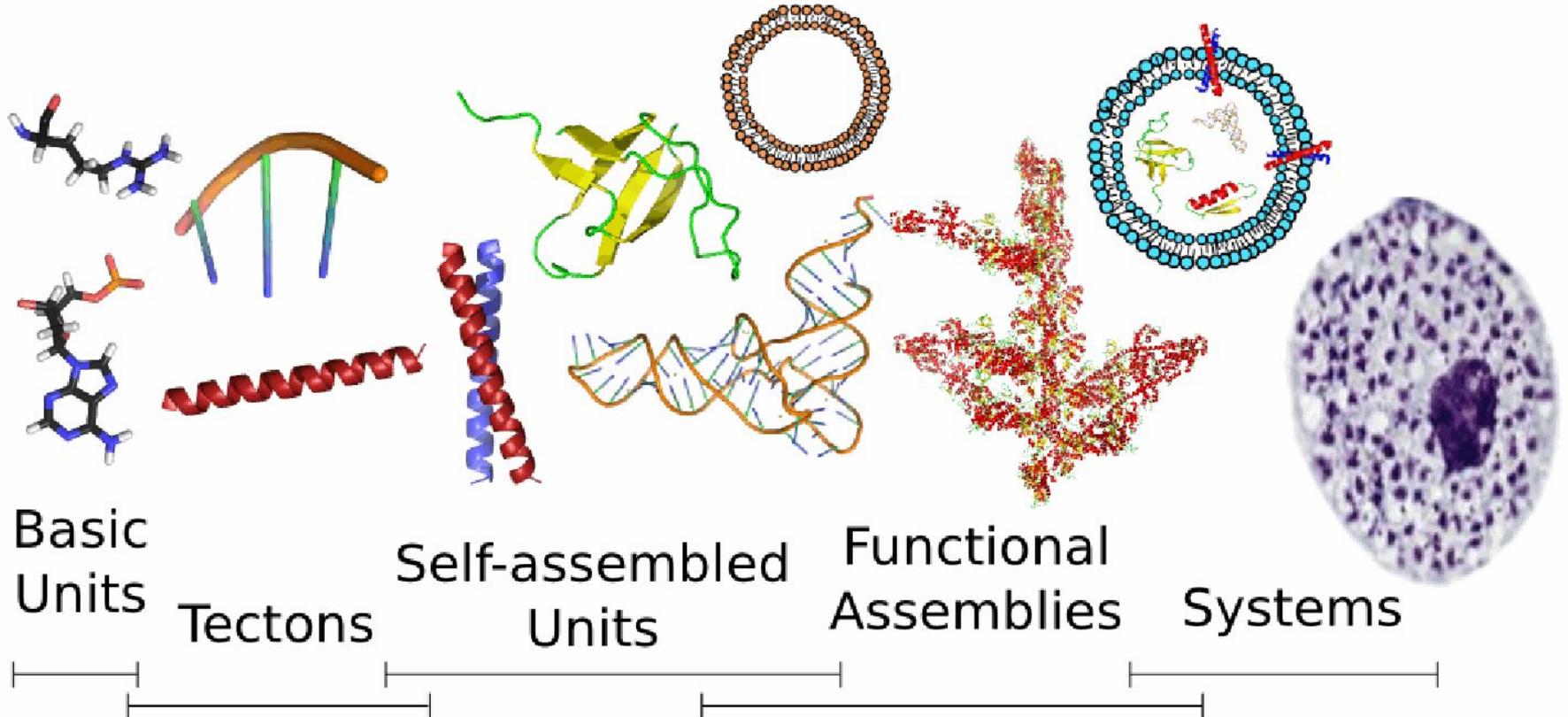


Synthetic Biology



СИНТЕТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ. ПРЕДМЕТ.

разработка методов и подходов для
конструирования живого по принципу
«снизу вверх»



**ПЕРВООЧЕРЕДНЫЕ
ЗАДАЧИ**

разработка методов количественного анализа отдельной клетки как многопараметрической системы

(несмотря на все успехи, до сих пор невозможно с достаточной достоверностью узнать, что же происходит внутри клетки)

стандартизация языка описания клетки, отдельных биологических компонент и целых метаболических путей

совершенствование технологии секвенирования и синтеза нуклеиновых кислот ДНК и РНК

автоматизация проектирования биологических систем

СИНТЕТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ. ИСТОРИЯ ТЕРМИНА.



Barbara Hobom

1980 г.

первое употребление термина **Барбарой Хобом** при описании бактерии, которая была генетически модифицирована с помощью технологии рекомбинантных ДНК

2000 г.

повторное применение термина **Эриком Кулом** при описании синтеза искусственных органических молекул



Eric Kool

ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ СИНТЕТИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ. ЧТО СДЕЛАНО.

1

- СИНТЕЗ ИСКУССТВЕННЫХ НУКЛЕОТИДОВ

2

- СИНТЕЗ ИСКУССТВЕННЫХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

3

- СИНТЕЗ ИСКУССТВЕННОГО ВИРУСА

4

- СОЗДАНИЕ ИСКУССТВЕННОЙ КЛЕТКИ

5

- СИНТЕЗ ИСКУССТВЕННЫХ БЕЛКОВ



ОСНОВЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ.
СИНТЕТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ.
**РЕВИЗИЯ РАБОТ ПО СОЗДАНИЮ
ИСКУССТВЕННОЙ ЖИЗНИ.**

КСЕНОБИОЛОГИЯ



раздел синтетической биологии целью которого является разработка форм жизни с иной биохимией или иным генетическим кодом

1

• исследование аналогов нуклеиновых кислот (КсНК) в качестве носителей информации

2

• исследование расширенного генетического кода

3

• включение не-протеиногенных аминокислот в белки

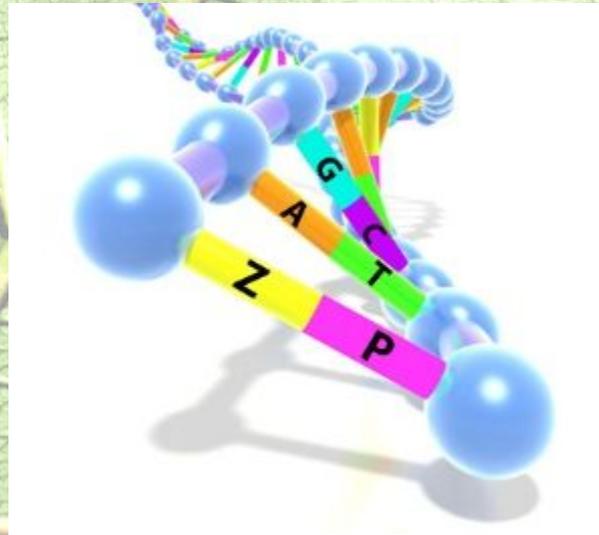
ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО СОЗДАНИЮ ИСКУССТВЕННОЙ ДНК



Steven Benner

1989 г.

Стивен Беннер и сотруд. синтезировали ДНК, содержащую два «искусственных нуклеотида» (P, Z) помимо известных (A, Г, Ц, Т.), используемых всеми живыми организмами Земли



КсНК. Молекулярные монстры?



Нуклеиновые кислоты с модифицированным каркасом

1

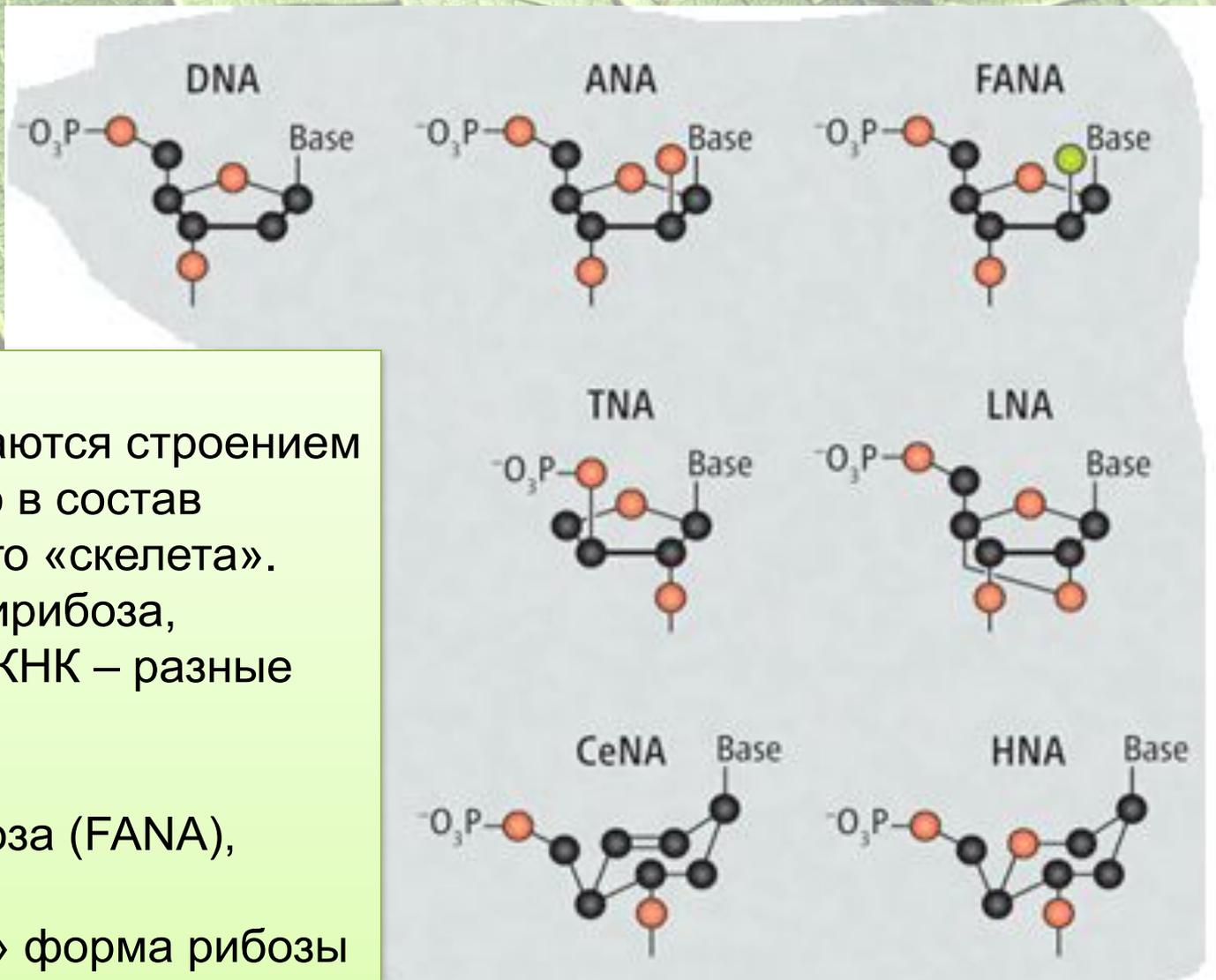
• **треозонуклеиновая кислота (ТНК)** – вместо рибозы или дезоксирибозы – треоза (четырёх атомный углевод)

2

• **арабинозонуклеиновая кислота (АНК)** – ...пятиуглеродная арабиноза

3

• **гексозонуклеиновая кислота (ГНК)** – ... ангидрогекситол



получено 6 КсНК

Молекулы различаются строением сахара, входящего в состав сахаро-фосфатного «скелета».

У ДНК это дезоксирибоза, у РНК – рибоза, у КНК – разные другие сахара:

арабиноза (ANA),

2'-флюороарабиноза (FANA),

треоза (TNA),

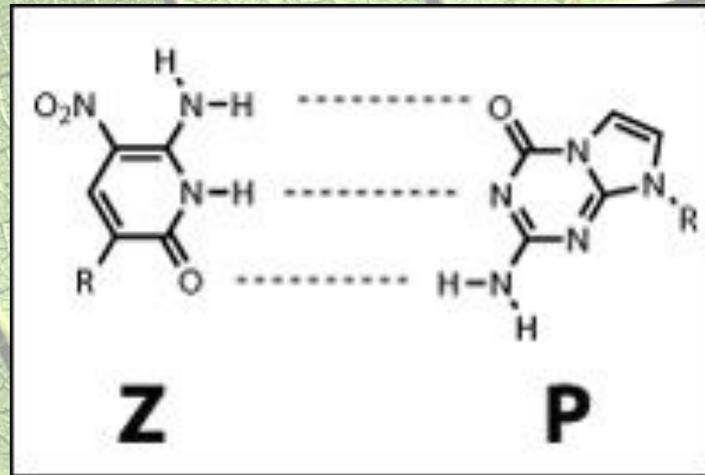
особая «запертая» форма рибозы (LNA),

циклогексен (CeNA),

ангидрогекситол (HNA)

Base — азотистое основание. Черные шарики — атомы углерода, красные — кислорода, зеленые — фтора. Изображение из статьи G. F. Joyce в

РАСШИРЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АЛФАВИТА. НУКЛЕОТИДЫ P и Z



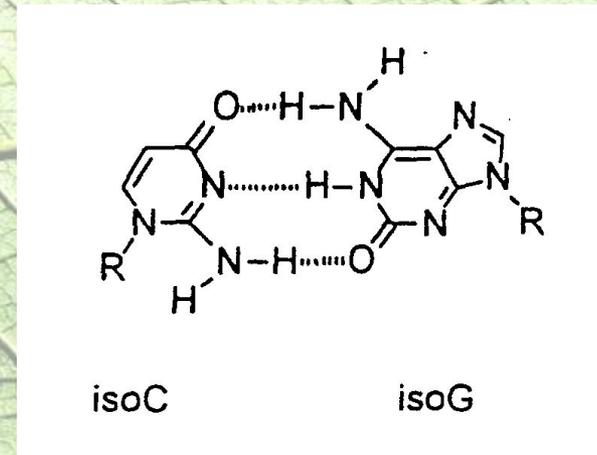
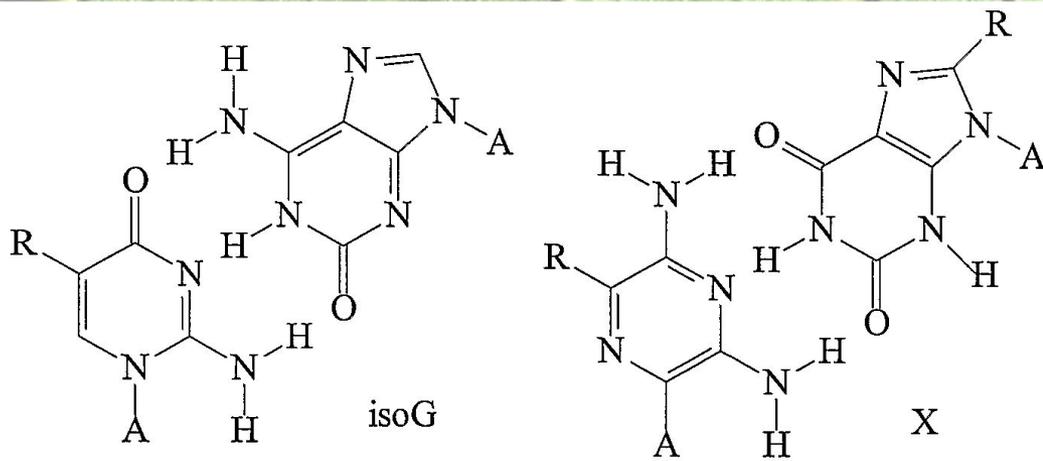
Нуклеотид Z –
пуриновый нуклеотид
(6-амино-5-нитро-3-(1'-Pd-2'-
деоксирибофуранозил)-2(1H)-
пиридон)

Нуклеотид P –
пиримидиновый нуклеотид
(2-амино-8-(1-бета-D-2'-
деоксирибофуранозил)имидазо
[1,2-а]-1,3,5-триазин-4(8H))

РАСШИРЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АЛФАВИТА. 4 + 8 НОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ = 12

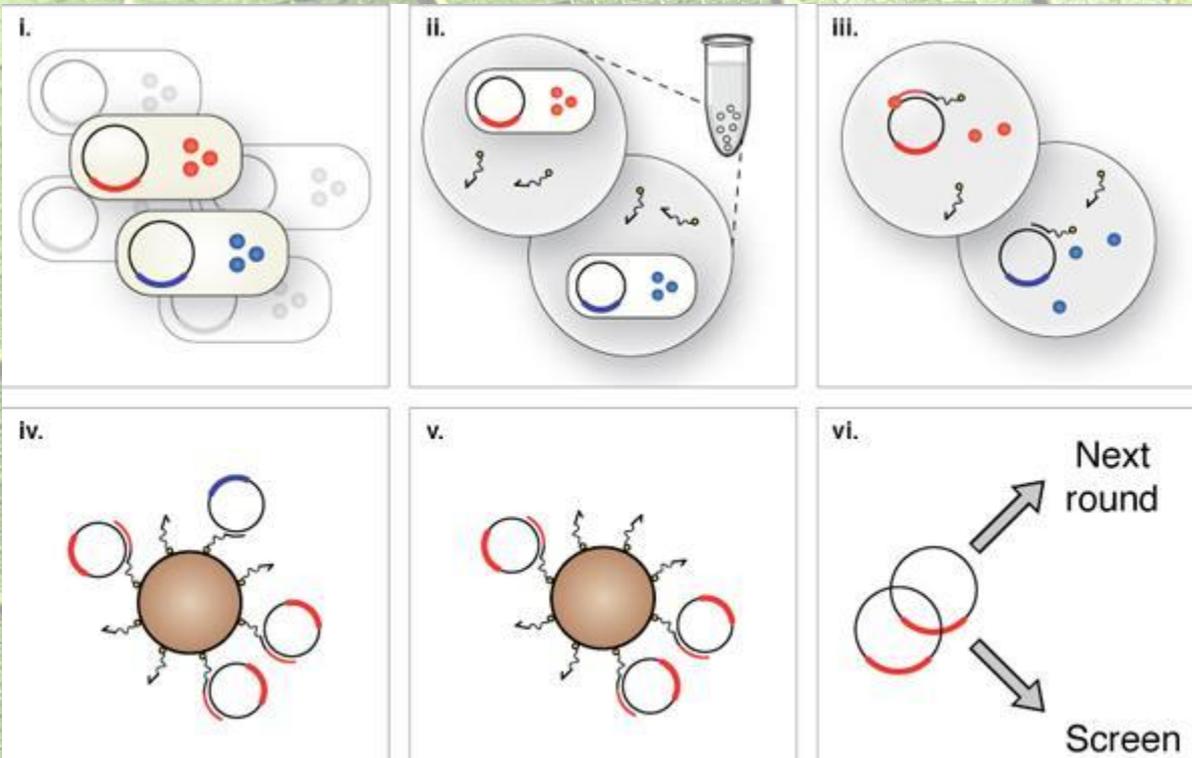
12-буквенный алфавит С.Беннера способен записывать генетическую информацию:

4 + 8 новых синтетических нуклеотидов (Z, P, V, J, Iso-C, Iso-G, X и K)



Ксенозимы.

Ферменты полимеразы, осуществляющие копирование ДНК – КсНК и наоборот



**Стратегия
искусственного отбора
полимераз, способных
синтезировать КсНК на
матрице ДНК**

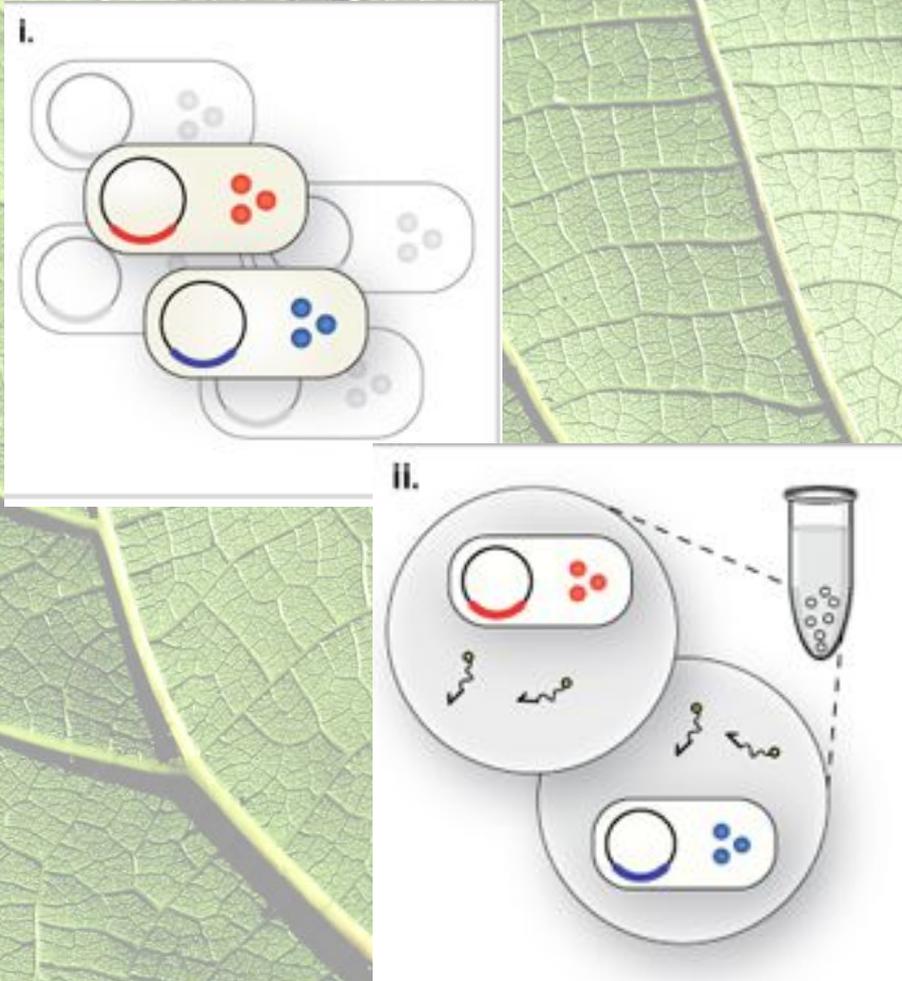
Большие круги с красными и синими фрагментами – плазмиды с разными вариантами гена полимеразы.

Маленькие красные и синие шарики – полимеразы.

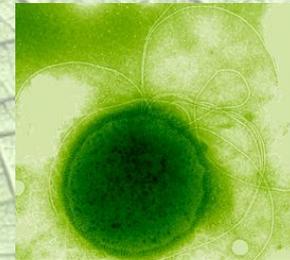
Крошечные не окрашенные кружки с загогулинами – праймеры.

Большие коричневые круги – шарики, покрытые стрептавидином, к которым присоединяется биотин, прикрепленный к праймеру.

Стратегия искусственного отбора полимераз

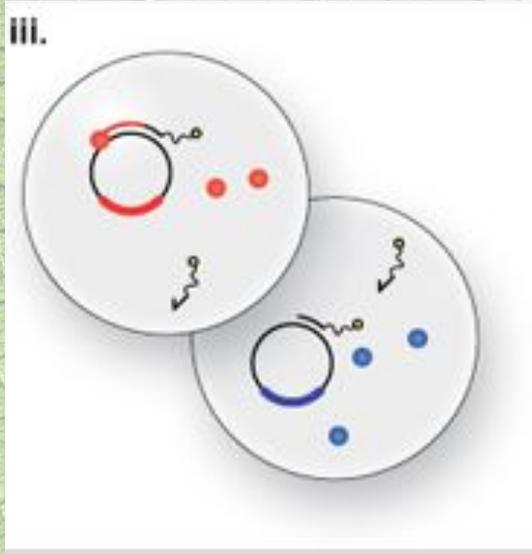


Бактерий *E. coli*, в которых были вставлены плазмиды с мутантными версиями гена полимеразы TgoT, помещали в водно-жировую эмульсию, так что каждый вариант полимеразы оказывался в отдельной капельке воды — в той же самой, где находился и его ген («компартиментализация»)



TgoT – ДНК-полимераза термофильной археобактерии *Thermococcus gorgonarius*

Стратегия искусственного отбора полимераз

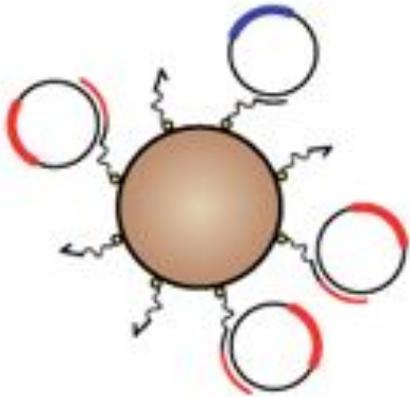


В воду добавляли «ксенонуклеотиды» и праймеры (меченные биотином), комплементарные участку той же плазмиды, в которой располагался ген полимеразы.

Праймер присоединяется к комплементарному участку ДНК, а полимеразы пытаются его достроить, используя ксенонуклеотиды в качестве мономеров для синтеза КНК. Если ей это удастся, праймер оказывается прикреплен к плазмидной ДНК

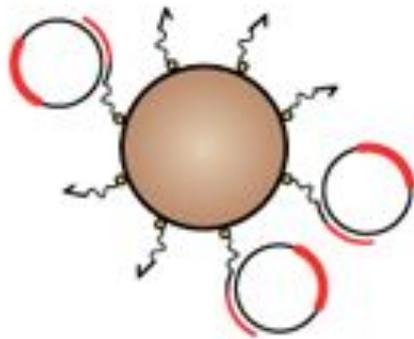
Стратегия искусственного отбора полимераз

iv.



Биотин, приделанный к праймеру, присоединяется к стрептавидину. В результате промывки на шариках остаются те плазмиды, чей ген полимеразы сумел обеспечить синтез КсНК и, как следствие, более прочное соединение праймера с плазмидой.

v.



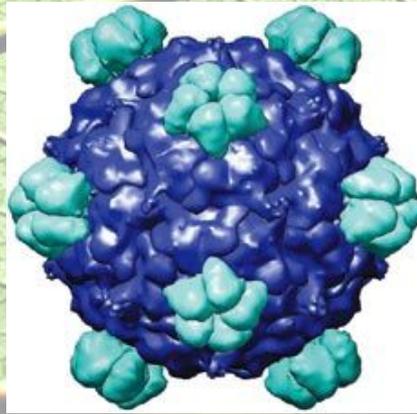
ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО СОЗДАНИЮ ИСКУССТВЕННОГО ГЕНОМА. ШАГ 1.



Hamilton O. Smith

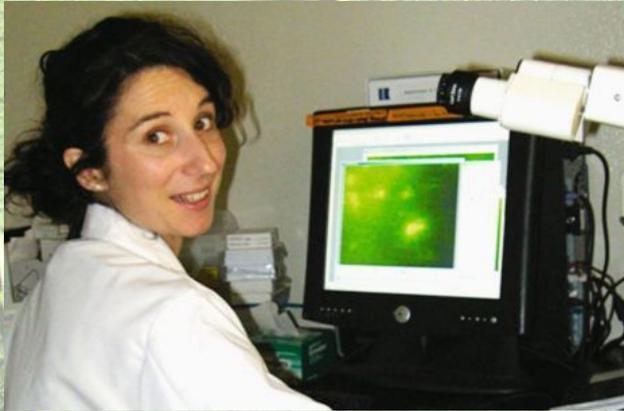
2003 г.

группа К. Вентера за 14 дней синтезировали искусственный геном (ДНК) бактериофага ϕ X174, состоящий из 5386 п.н.



Бактериофаг ϕ X174 содержит всего 11 генов.

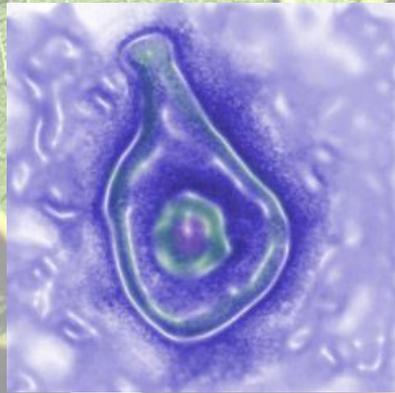
ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО СОЗДАНИЮ ИСКУССТВЕННОГО ОРГАНИЗМА. ШАГ 2.



Carole Lartigue

2007 г.

институт Крейга Вентера закончил работу по созданию искусственного генома *Mycoplasma laboratorium* на базе структуры бактерии *Mycoplasma genitalium*



Синтетическая хромосома *M.genitalium* JCVI-1.0 имеет молекулярную массу 360,110 kDa. Напечатанная на бумаге шрифтом в 10 пунктов последовательность синтетической хромосомы занимает 147 страниц.

МЕТОДЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ СОЗДАНИИ ИСКУССТВЕННОГО ГЕНОМА

1

- химический синтез фрагментов ДНК (модулей)
маркирование синтетического генома

2

- сборки модулей в 25 фрагментов ДНК по 24 т.п.н. (*E. coli*)

3

- комбинирование полученных фрагментов в 8 блоков по 72 т.п.н. (*E. coli*)

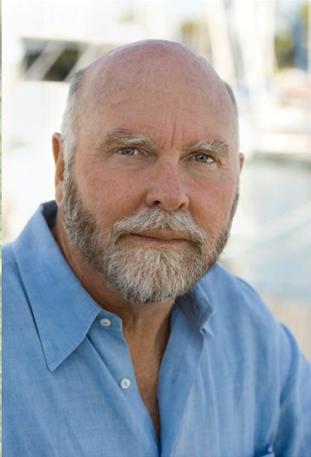
4

- объединение в 4 фрагмента по 144 т.п.н. (*E. coli*)

5

- Объединение в кольцевую ДНК (*дрожжи*)

ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО СОЗДАНИЮ ИСКУССТВЕННОГО ОРГАНИЗМА. ШАГ 3.



2010 г.

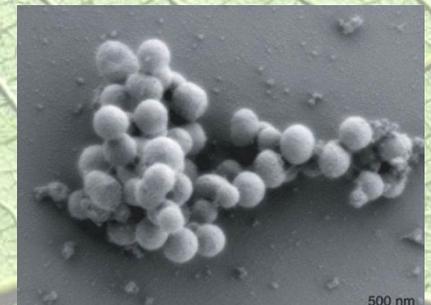
группа Крейга Вентера создала искусственную бактерию.

Участниками эксперимента стали бактерии *Mycoplasma mycoides* (искусственный геном) и *Mycoplasma capricolum*.

«Мы поместили карту ДНК в компьютерную программу, взяли четыре пузырька химикатов и построили генную цепочку из миллиона с лишним элементов.

Искусственную молекулу с генокодом мы пересадили в живую бактерию, и она превратилась в новый вид»

(К. Вентер)



ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ



6 октября 2009 года, Крейг Вентер
получает Национальную научную
медаль



Многофункциональная база на Марсе
(изображение NASA).

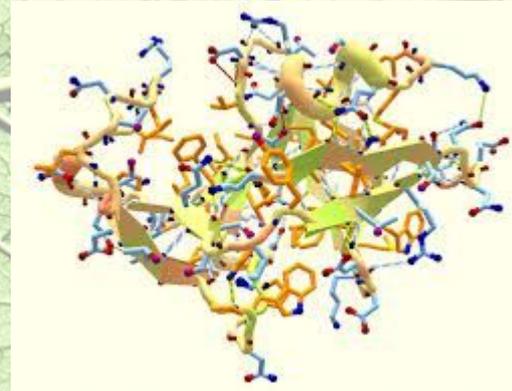
ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО СИНТЕЗУ ИСКУССТВЕННОГО БЕЛКА.



David Baker

2004 г.

Дэвид Бейкер и сотrud. синтезировали первый рукотворный белок Top7.

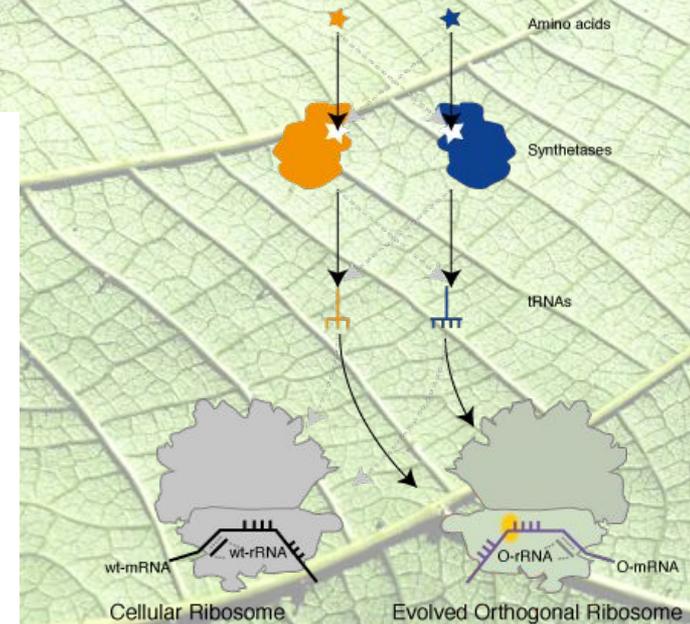
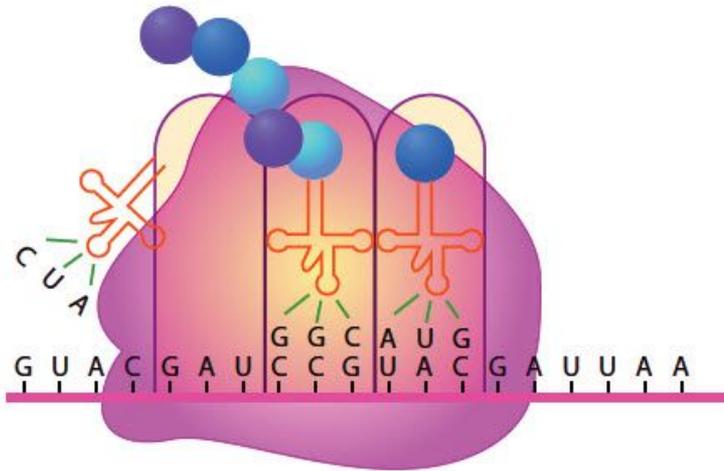


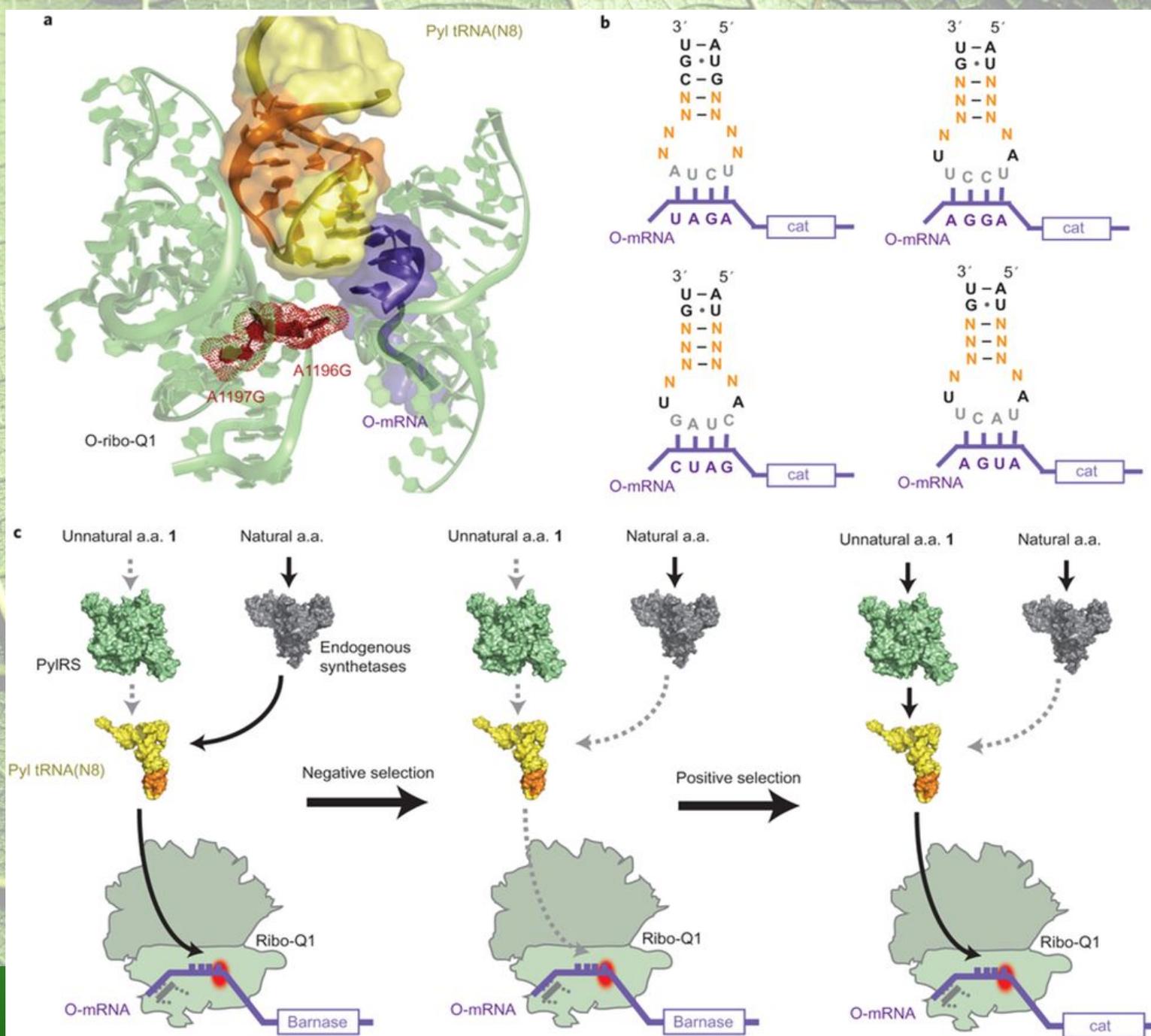
ЭКСПЕРИМЕНТЫ ДЖЕЙСОНА ЧИНА

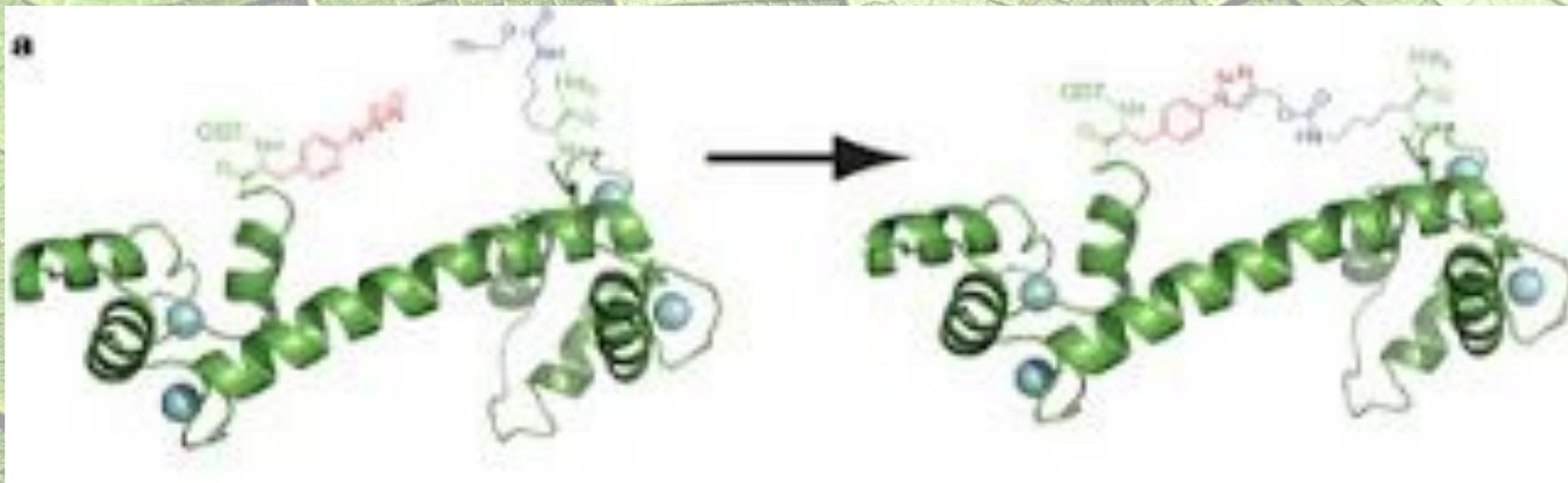


Jason Chin

Джейсон Чин и сотруд. составили кодоны из 4 нуклеотидов и научили *E. coli* синтезировать белки по измененным 4-буквенным кодонам. Получилось создать дополнительно 256 комбинаций нуклеотидов, не соответствующих 22 природным аминокислотам.







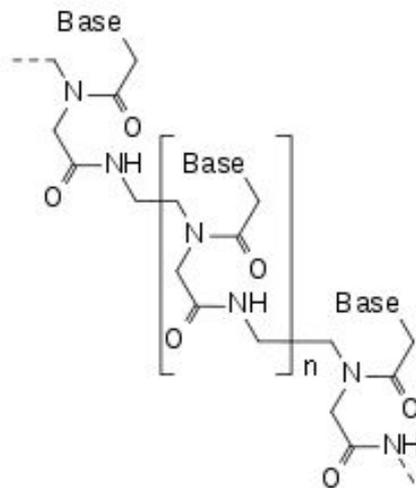
ПРИМЕР, в белок кальмодулин встроили 2 новых аминокислот, которые в пространстве дополнительно соединились друг с другом (образовали *циклический кросс-линк*). Это укрепило трехмерную пространственную структуру белка.

ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО СОЗДАНИЮ ИСКУССТВЕННОЙ КЛЕТКИ



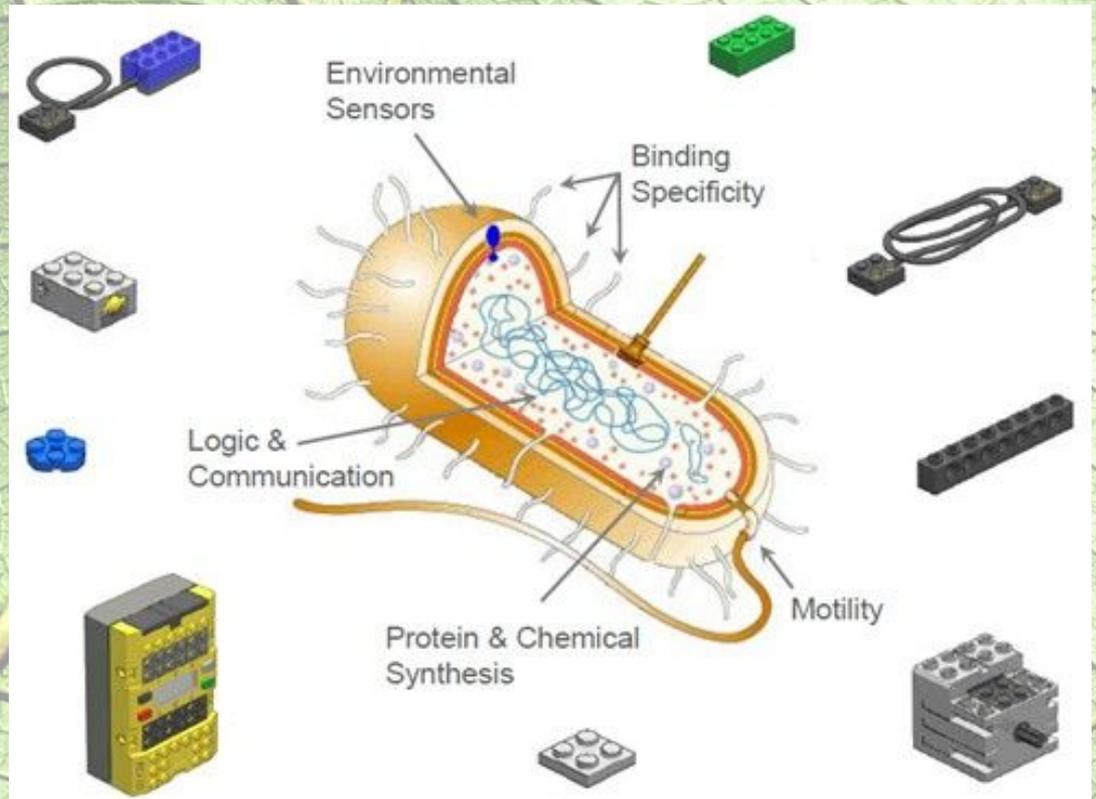
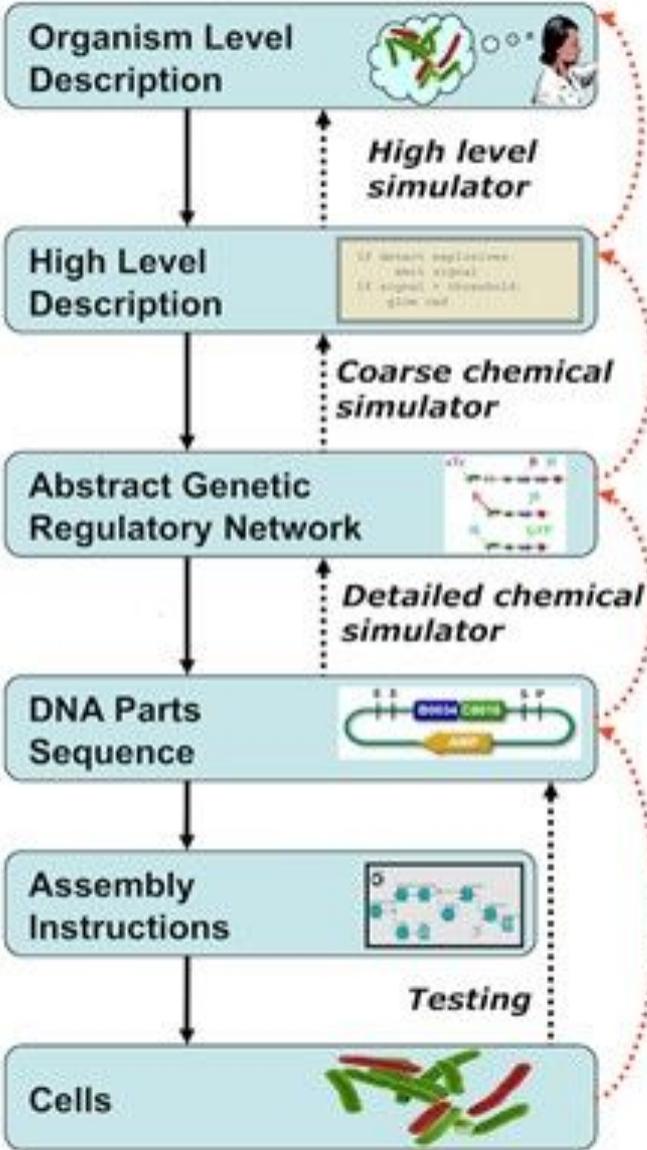
Steen Rasmussen

Стин Расмуссен с коллегами из американской Национальной лаборатории в Лос-Аламосе намерен создать принципиально новую форму жизни - **протоклетку**

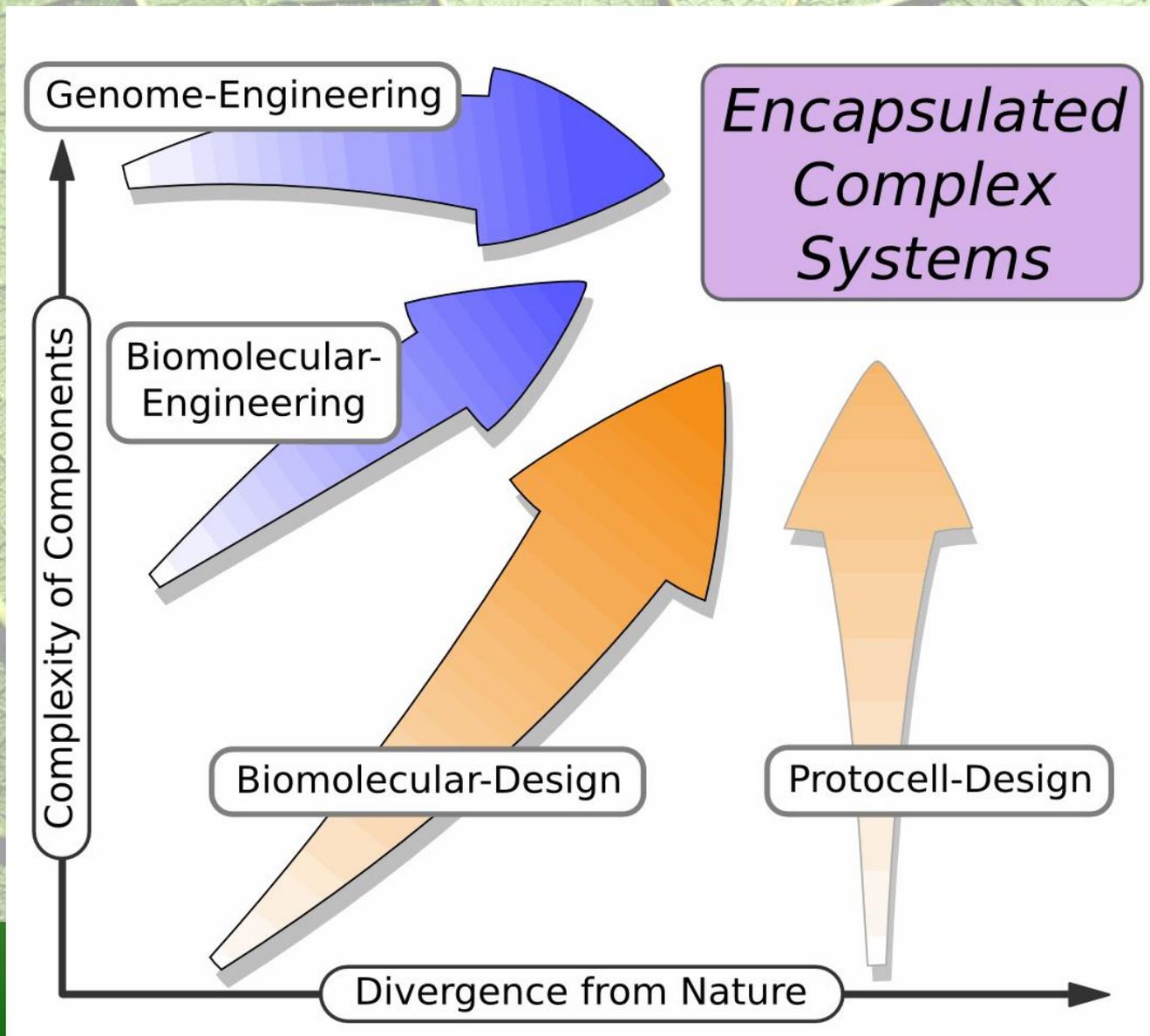


Структура ПНК – полиамидный скелет молекулы (у РНК и ДНК он состоит из остатков фосфорной кислоты) присоединён к азотистым основаниям (base).

Stages for Engineering Cells



СИНТЕТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ. ПЕРСПЕКТИВЫ.



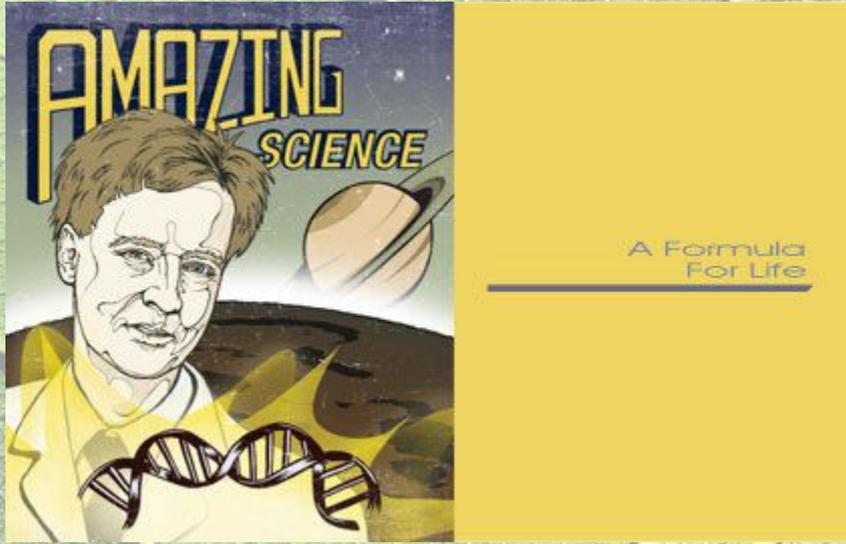
СИНТЕТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ. ФАНТАСТИЧЕСКИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ.



Американский писатель Рэй Брэдбери как-то сказал, что история человечества не что иное, как научная фантастика: превращение мечты в реальность

Рэй Брэдбери

ПЕРСПЕКТИВЫ НАУКИ. ИЩЕМ ЖИЗНЬ В КОСМОСЕ.



Steven Benner is a science fiction writer's dream



Миллиарды лет эволюции породили великое разнообразие организмов. Но ещё есть масса направлений для развития. А ждать ещё миллиард лет до появления чего-то нужного – учёные не хотят. Новое направление генной инженерии «синтетическая биология» ставит перед собой грандиозную цель: создание принципиально иной жизни

