

# Дать засохнуть

## Африканский комар подсказал секреты сохранения биоматериалов

Семь лет назад в рамках подготовки пилотируемой экспедиции на Марс ученые проводили эксперименты с биологическими объектами. Один из результатов выглядел просто фантастически. Высушенные личинки африканского комара провели почти полтора года на внешней обшивке Международной космической станции - без питания, при огромном перепаде температур (от минус 150 в тени до плюс 60 на солнце). Более 80% из них выжили!

Тут возникает вопрос: а что, собственно, такое нормальные условия? Человек - создание эгоцентрическое: он называет экстремальным все, что не соответствует его представлениям о норме. Целая научная область - экстремальная биология - изучает живые организмы, для которых наши экстремальные условия - вполне приемлемая жизненная среда, будь то открытый космос, жидкий азот или кипящий источник. "Это крайне интересно с фундаментальной точки зрения, с точки зрения эволюции, как многообразные организмы приспособились к своей экологической нише", - говорит старший научный сотрудник Лаборатории экстремальной биологии Казанского (Приволжского) федерального университета (КФУ) кандидат биологических наук Елена ШАГИМАРДАНОВА.

Однако интерес тут и практический тоже. Уникальные создания оказываются полезными не только при освоении космических пространств. Знание молекулярных механизмов выживания организмов в экстремальной среде помогает решать многие земные проблемы. Объектом изучения в одном из проектов, выполняемых учеными лаборатории в рамках ФЦП "Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы", стал как раз комар с Африканского континента. Проект называется "Разработка новых подходов в хранении биоматериалов медицинского и сельскохозяйственного назначения".

Хирономида, или комар-звонец, - наиболее сложный из известных организмов, способных пережить длительное высушивание. Его личинки - знакомый всем рыбакам мотыль - живут в придонном иле, попадают на глубину до 300 м. Встречаются они повсеместно, от Антарктиды до Африки. Но в Африке очень короткий период дождей и длинный, до 8 месяцев, сухой сезон. Пересыхает все! Как может живой организм столь долгое время продержаться без воды? Есть разные стратегии выживания: бактерии формируют споры, растения-суккуленты задерживают в себе воду...

Хирономида же, наоборот, старается совсем изгнать воду из своего организма, - рассказывает Елена Шагимарданова. - Вместо нее синтезируется сахар трегалоза. Личинка сжимается, сморщивается, становится совершенно сухой, выглядит как мертвая. Но она жива, хоть и не подает признаков жизни. Любой обмен веществ прекращается, по крайней мере на уровне, который можно обнаружить современными научными методами. И в таком виде хирономида может жить годы. В научной литературе зафиксирован максимальный срок 17 лет, но из разговоров с учеными, которые ее изучают, мы знаем, что по факту он даже больше. Открыли эти свойства в 1951 году, была опубликована статья в

Nature. Примерно с тех пор личинки хирономиды лежат в музее Университета Бристоль. Когда их не так давно бросили в воду - некоторые ожили.

Понимание того, как личинке комара удается так законсервировать себя, чтобы потом вернуться к жизни, может, в принципе, помочь человеку сохранять любые биоматериалы. На решение этой практической задачи и нацелен проект, о котором пойдет речь. Он международный - выполняется совместно с коллегами из Японии. Роли распределены, каждый делает свою часть, после чего следуют обсуждение результатов и совместные публикации.

Руководитель и проекта, и самой лаборатории экстремальной биологии - кандидат биологических наук Олег Гусев, недавно вышедший из категории "молодой ученый". С другой стороны

ное поколение личинок, всегда можно проверить любую гипотезу.

Несколько лет назад японским коллегам удалось выделить культуру эмбриональных клеток (то есть клеток из яиц) хирономиды. В природе эти клетки при высокой температуре в отсутствие влаги погибают за секунды. Тем не менее генетически они должны быть способны к высушиванию - ведь именно из них потом появляются личинки. Был разработан протокол, позволяющий сохранять эту культуру при высушивании. Сначала ее два дня в специальном режиме держат в десикаторе, в растворе с высокой концентрацией трегалозы. Клетки впитывают трегалозу, и это запускает молекулярные механизмы, позволяющие культуре высохнуть "правильно" (чтобы потом при увлажнении "ожить").

- Наша задача - научиться все это ис-



пользовать при разработке биотехнологий, которые можно будет применять для хранения биоматериалов, - подчеркивает Елена. - Многие биологические препараты сохраняются лишь при низких температурах: лекарства, банки клеток, банки спермы, банки крови, эмбрионы, органы для трансплантации... Для хранения требуется большое количество энергии, специальное оборудование, возникают трудности с транспортировкой. Это дорого, наконец. А представляете, насколько все станет дешевле и проще, если можно будет высушить кровь, потом растворить ее в воде - и готово, можно переливать! Конечно, мы не научимся за два года проекта высушивать кровь, высушивать сердца... Но даже если удастся чуть-чуть продлить время их хранения, предотвратив или хотя бы замедлив патологические изменения - такой результат уже будет востребован на рынке. А начинать надо с малого.

Еще до начала этого проекта мы на самих хирономидах изучили их геном. Важно отметить, что в анализ работы генома уникального существа включились лучшие биоинформатические лаборатории России - из МГУ, Сколтеха, Института проблем передачи информации им. А.А.Харкевича РАН. Сейчас перешли к работе на культуре клеток: проверили транскрипционный профиль, посмотрели, как происходит экспрессия генов, какие гены в культуре клеток начинают работать, когда исчезает вода. Клетка в этот момент испытывает сильнейший окислительный стресс - в ней все элементы окисляются, так как без воды начинается утечка электронов с электротранспортной цепи. Окисление во многих случаях для клетки означает смерть. Один из секретов выживаемости хирономиды -

пользовать при разработке биотехнологий, которые можно будет применять для хранения биоматериалов, - подчеркивает Елена. - Многие биологические препараты сохраняются лишь при низких температурах: лекарства, банки клеток, банки спермы, банки крови, эмбрионы, органы для трансплантации... Для хранения требуется большое количество энергии, специальное оборудование, возникают трудности с транспортировкой. Это дорого, наконец. А представляете, насколько все станет дешевле и проще, если можно будет высушить кровь, потом растворить ее в воде - и готово, можно переливать! Конечно, мы не научимся за два года проекта высушивать кровь, высушивать сердца... Но даже если удастся чуть-чуть продлить время их хранения, предотвратив или хотя бы замедлив патологические изменения - такой результат уже будет востребован на рынке. А начинать надо с малого.

Еще до начала этого проекта мы на самих хирономидах изучили их геном. Важно отметить, что в анализ работы генома уникального существа включились лучшие биоинформатические лаборатории России - из МГУ, Сколтеха, Института проблем передачи информации им. А.А.Харкевича РАН. Сейчас перешли к работе на культуре клеток: проверили транскрипционный профиль, посмотрели, как происходит экспрессия генов, какие гены в культуре клеток начинают работать, когда исчезает вода. Клетка в этот момент испытывает сильнейший окислительный стресс - в ней все элементы окисляются, так как без воды начинается утечка электронов с электротранспортной цепи. Окисление во многих случаях для клетки означает смерть. Один из секретов выживаемости хирономиды -

очень активная антиоксидантная система. В процессе эволюции хирономида "приобрела" много антиоксидантных белков, которые больше ни у каких насекомых не встречаются. Список генов-антиоксидантов у нее в два-три раза длиннее, чем в известных геномах других насекомых.

Мы можем выбрать минимальный набор генов, необходимый для выживания клеток после высушивания, - некий "сет выживания". Эту фундаментальную задачу мы решали на первом этапе проекта. Выяснив, какие гены работают, приступили к созданию конструкций с включением этих генов (конструкция - это элемент ДНК, в который встроены нужные гены).

Оказалось, что в клетках при высушивании очень активно синтезируются защитные белки, которые потом связываются с другими белками и защищают их от деградации, когда вода уходит. Если ответственные за синтез этого белка гены перенести в другие виды клеток, эти клетки, в идеале, должны тоже при высушивании оказаться под защитой. Над этим мы сейчас работаем.

Решают ученые и обратную задачу: стремятся понять, можно ли "заставить" культуру клеток хирономиды сохранять какой-то чужеродный белок, хирономиде изначально не свойственный. В качестве такого "чужеродца" был выбран фермент люцифераза - белок, который при высушивании начинает терять свою биологическую активность, что сразу становится видно, так как он при этом перестает светиться. Ген люциферазы встраивается в конструкцию, которая, в свою очередь, вводится в культуру клеток хирономиды. После того как культура "наработает" чужеродный белок, ее высушивают по всем правилам, потом капают воду и смотрят, есть свечение или нет. В перспективе такой метод может быть использован для производства белковых лекарственных средств, которые не подлежат хранению, - их можно будет синтезировать внутри нашей культуры клеток, высушивать, транспортировать, потом добавлять воду и выделять оттуда белок, он же лекарство.

Несмотря на то что формально проект, поддержанный ФЦП, заканчивается в 2016 году, его результаты позволили разработать целую "дорожную карту" на ближайшее будущее. Полученный технологический задел будет применен в практических задачах хранения антител, а также для создания методик, позволяющих значительно повысить длительность хранения генетических тестов для медицинских лабораторий. Кроме того, независимая экспертиза комиссий министерств образования и министерств сельского хозяйства Японии и России рекомендовала включить данный проект в программу сотрудничества двух стран в области высоких технологий. Можно надеяться, что сотрудничество российских и японских ученых выйдет на новый уровень.

- Кроме того, в процессе выполнения этого проекта возникло множество новых идей! - делится Елена. - Можно было бы написать добрый десяток небольших статей, но жалко распыляться, хотелось бы еще "покопаться". У нас проектов получается больше, чем рабочих рук. Но так, наверное, во всем мире... Мы привлекаем студентов, они делают у нас курсы, приглашаем аспирантов. Многие из наших сотрудников ведут хобби-проекты, параллельно с темой диссертации.

Работая с хирономидами, мы освоили геномные технологии, научились читать геномы, а это очень востребовано в медицине. И сейчас у нас появились проекты, уже не связанные с экстремальной биологией, например исследования по заказу онкологического центра.

В общем, без работы эта лаборатория явно не останется.

Наталия БУЛГАКОВА  
Фото предоставлено  
Е.Шагимардановой