

НАУКА НА ГРАНИ ИСКУССТВА

В конце июня в Институте цитологии и генетики СО РАН прошла Международная конференция по биоинформатике регуляции и структуры геномов (BGRS\SB'10). Это уже седьмая конференция, посвященная данной теме (подобные мероприятия проводятся раз в два года). Организатором и бессменным председателем Программного комитета является директор ИЦиГ СО РАН академик Николай Александрович Колчанов.

В программе были пленарные лекции, устные доклады, специализированные стендовые сессии, симпозиумы, компьютерные демонстрации и демонстрации программного обеспечения. На секциях обсуждались вопросы биоинженерии макромолекул, интеграции технологий *in silico* и *in vitro* в разработке лекарственных препаратов, актуальные проблемы системной биологии и геронтологии и др. Симпозиумы были посвящены современным концепциям в научных исследованиях лабораторных животных, системной биологии в паразитологии и другим интересным темам. Также в рамках «BGRS\SB'10» состоялась научно-практическая конференция «День суперкомпьютерных технологий: наука, образование, промышленность», которая прошла под эгидой Правительства Новосибирской области и Совета по супервычислениям при Президиуме СО РАН в партнерстве с корпорацией «Intel», а также Школа молодых ученых «Биоинформатика и системная биология».

По мнению самих ученых, по разносторонности и широте обсуждаемых проблем конференции BGRS, пожалуй, единственные мероприятия подобного профиля в России и странах СНГ. Отличительной особенностью нынешней конференции стало включение в круг обсуждаемых проблем вопросов системной биологии — нового направления, задачей которого является изучение закономерностей организации и функционирования биологических систем разных иерархических уровней и интеграция полученных данных.

Наш корреспондент Елизавета Садыкова встретила с участниками форума и узнала их мнение как о самом мероприятии, так и о тенденциях в развитии современной биологии.

По словам академика Н. А. Колчанова, системная биология — это новое направление исследований, имеющее ярко выраженный интегративный характер, основанное на сочетании эксперимента и биоинформатики. Необходимость такой интеграции возникла в связи с тем, что в последние десять лет произошли существенные изменения в экспериментальных методах изучения живых существ на всех уровнях иерархической организации, от геномного и генного, до уровня организма в целом.

Появилось целое «семейство» методов секвенирования, позволяющих в одном эксперименте прочитать целый геном. Сегодня в арсенале учёных имеются высокопроизводительные методы исследования протеома — белкового состава клеток, тканей, организмов; более совершенные технологии исследования экспрессии генов, высокопроизводительные и высокоразрешающие технологии томографического анализа, дающие возможность с хорошей детализацией изучать структурную организацию организмов в прижизненном состоянии и распределение различных метаболитов. Объемы

экспериментальных данных, получаемые на основе этих технологий, настолько велики, что не только их практическое использование, но даже их интеграция и интерпретация невозможны без применения современных информационных технологий, высокопроизводительных компьютерных систем, эффективных методов анализа данных и подходов, позволяющих моделировать изучаемые системы.

Но в одиночку в современном мире не выжить, поэтому ученые объединяют свои усилия, для чего и проводятся подобные конференции. Так, самыми надежными партнерами ИЦиГ являются, безусловно, институты СО РАН и НГУ. Также налажено сотрудничество с французскими коллегами из INRA, немецкими коллегами из Гейдельберга (совместное исследование вируса гепатита «С»), учеными из Индии (изучение туберкулёза). И, конечно же, самый нашумевший проект — секвенирование генома описторха, осуществлявшийся совместно со специалистами из научных учреждений разных городов и стран, включая Российский научный центр «Курчатовский институт», ранее — Институт атомной энергии им. И. В. Курчатова, Сибирский государственный медицинский университет (г. Томск) и крупный научный центр в Таиланде.

Об исследованиях в области биомедицины и компьютерного моделирования нам рассказал профессор Алексей Сергеевич Иванов, НИИ биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича РАМН:

— Исходно я биофизик-экспериментатор, моя кандидатская была по биофизике биологических мембран, но постепенно научные интересы сместились в сторону биохимии, по которой я и защищал докторскую. Когда академик Александр Иванович Арчаков возглавил Институт биомедицинской химии РАМН (ИБМХ им. В. Н. Ореховича РАМН), он предложил мне заняться молекулярным компьютерным моделированием. Тогда это было в новинку — даже слова «биоинформатика» еще не существовало. И, тем не менее, мы занялись крайне трудным направлением — компьютерным конструированием лекарств.

Лаборатория потихоньку разрасталась, прогресс не стоял на месте, появлялись более мощные компьютеры, «продвинутое» программное обеспечение, новые открытия в молекулярной биологии и геномике расширяли наши знания, поэтому в институте была в скором времени создана вторая компьютерная лаборатория, потом третья, а в результате появился целый отдел биоинформатики. Нам удалось совершить прорыв в области компьютерного конструирования лекарств, поэтому в институт стали обращаться зарубежные фармфирмы с предложениями о совместных исследованиях. Так, в течение пяти лет мы выполняли научный проект с фирмой «Procter&Gamble», семь лет работали с научным центром фирмы «Janssen-Cilag», были контакты и с другими зарубежными компаниями. Таким образом мы заработали внебюджетные деньги, на которые были приобретены первые профессиональные компьютеры и программные средства для молекулярного моделирования — мощные многопроцессорные серверы и рабочие графические станции фирмы «Silicon Graphics».

Академику А. И. Арчакову удалось доказать как на академическом, так и на государственном уровне, что вопросами компьютерного моделирования нужно заниматься всерьез, что это не игрушка, а необходимый новый компонент процесса создания лекарств. Он не отменяет всю классическую фармакологию, но облегчает первые шаги рождения нового лекарства.

— Алексей Сергеевич, у вас получилось какое-нибудь лекарство разработать и довести до аптеки?

— Обычно работы, выполняемые в рамках грантов, НИР или госзаказов заканчиваются возникновением новых прототипов лекарств. Дальнейший путь создания реального лекарства на основе прототипа, выполнение всех регламентированных доклинических и клинических испытаний, словом, все этапы доведения лекарства до производства и аптеки могут занять от 15 до 25 лет и требуют совершенно другого уровня финансирования. Но одно лекарство мы всё-таки сделали, и оно есть в продаже — это «Фосфоглив». Капсульная форма нашего лекарства представляет по своим свойствам более эффективный и безопасный аналог «Эссенциале-Форте», однако основное наше достижение, которое было отмечено премией Правительства РФ — «Фосфоглив» для внутривенных инъекций, созданный для восстановления поврежденных мембран печеночных клеток и обладающий крайне высокой эффективностью. Эта форма препарата является первым настоящим нанолечением, разработанным в России. Оно было сделано в те времена, когда о нанотехнологиях никто и не слышал, и представляет из себя наноразмерные частицы фосфолипидов. Поскольку в этом вопросе мы были первопроходцами, промышленных технологий подобного уровня просто не существовало, нам пришлось решать эти проблемы самим, с нуля. Например, часть производственного цеха была сконструирована в НПО им. М. В. Хруничева и представляла из себя половину космической станции. В итоге в нашем институте было построено опытное производство по GMP-стандарту, которое более 10 лет выпускало обе формы препарата.

— Расскажите, пожалуйста, подробнее, как выглядит процесс разработки новых лекарственных препаратов?

— По классической схеме фармакологии новые базовые структуры будущих лекарств находят в природных объектах широким «слепым» поиском, с затратой огромных средств и времени и крайне низким КПД. То же самое происходит и в лабораториях, когда химики и фармакологи пытаются модифицировать химическую структуру известного фармакологически активного вещества, чтобы улучшить его свойства. При этом найти принципиально новое соединение, отличное по структуре от того, что уже известно, практически невозможно, у исследователей нет для этого никаких посылок.

Что позволяет делать компьютерное моделирование? Во-первых, определить неявные взаимосвязи между набором известных соединений, их химической и трехмерной структурой и теми свойствами, которые они проявляют. Есть целое направление в биоинформатике, которое занимается подобным анализом. Эксперименты, когда поиск ведется вслепую, приводят к крайне нерациональным затратам сил, времени, денег, лабораторных животных. А ведь большинство таких попыток в наше время можно выполнить на компьютере за считанные минуты: рисуется новая химическая структура, и экспертная система с вероятностью 80–90 % может дать правильный ответ об изменении свойств модифицированного соединения. То есть непроизводительный, заикленный экспериментальный процесс поиска удачных модификаций определенных соединений берет на себя компьютер, сокращая объем экспериментальных работ на данном этапе. Но это никоим образом не исключает все шаги классической фармакологии, включающей доклинические и клинические испытания будущих лекарств, но дополняет их рациональным подходом при первоначальном поиске новых базовых структур.

Относительно недавно (примерно 15 лет назад) сложилась догма современной молекулярной фармакологии: любое лекарственное соединение оказывает фармакологический эффект путем взаимодействия со своей молекулярной мишенью. В качестве таких мишеней чаще всего выступают белки. С появлением этой формулировки выкристаллизовалось новое научное направление — конструирование молекул лекарств на основе пространственной структуры белка-мишени. Наука стала

стремительно продвигаться вперед в разработке методов моделирования пространственных структур белков, их комплексов с низкомолекулярными лигандами, оценки прочности комплексов путем расчета изменения свободной энергии и т.д. Однако все исследования уперлись в проблему недостатка знаний о трехмерной структуре белков-мишеней.

В связи с геномными успехами знания об аминокислотной последовательности (первичная структура белка) у нас огромные, мы знаем буквально миллионы первичных структур белков, а вот знаний о трехмерных структурах у нас практически нет, всего от 3 до 5 % от этого объема. Более того, мы почти не имеем представления о функции белков, которые найдены в геномных исследованиях. И аннотация геномных данных пока оставляет желать лучшего. Функции белков аннотируются по сходству их аминокислотных последовательностей. Если они похожи, значит, это родственные белки и их функции схожи. В результате каждому новому белку данная функция приписывается без какой-либо проверки. Результат заносится в базы данных и может быть использован для аннотации другого белка, и новый белок будет проаннотирован по белку, известному ранее. То есть гипотезы порождают новые гипотезы второго, третьего и так далее порядка. Количество ошибок при этом раз от разу растет. Но пока этот метод остается единственным, другие ещё не открыты. Сегодня биоинформатики очень активно разрабатывают разные математические методы, позволяющие аннотировать даже ни на что не похожие белки. Пока все остается по-прежнему: аннотации белков — это всего лишь гипотезы, которые экспериментально никто не проверял.

Есть ещё одна проблема — многие белки числятся в базах данных, хотя их физическое существование в живых организмах никто не проверял. Они были вычислены на основе анализа геномных последовательностей как возможные продукты генов. Поэтому непонятно, как под такие гипотетические мишени можно конструировать новые лекарства. Здесь затрагивается большая сфера биоинформационных, геномных и протеомных исследований, поэтому в свое время академик А.И. Арчаков выдвинул тезис о триаде технологий в постгеномную эру — геномика, протеомика и биоинформатика, которые друг без друга не могут существовать.

Большой успех в современной белковой науке — это возможность получать любые белки в большом количестве методами геной инженерии, биотехнологии и биохимии. Подходы классической биохимии, когда белок выделяли из биологической ткани изучаемого живого организма, ушли в прошлое. Теперь для получения практически любого белка, например, кролика, мыши и тем более человека, нет необходимости брать целые органы или ткани. Современные методы основаны на создании геной конструкции, содержащей ген целевого белка, вставленный в бактерию-продуцент (например, кишечную палочку или дрожжи). Если создать условия для размножения данного микроорганизма, можно получить биомассу и выделить из неё целевой белок в любых необходимых количествах. Эти технологические достижения резко ускорили получение препаратов целевых белков в количествах, необходимых для исследования их пространственной структуры методами белковой кристаллографии.

— Разве белки способны кристаллизоваться?

— Кристалл белка — это отдельная история. Для того, чтобы изучить достоверную информацию о пространственной структуре белка-мишени, существует практически единственный путь — наработать его в нужном количестве и вырастить чистый кристалл. В этом вопросе наука до сих пор остается на грани искусства. Вырастить кристалл — это искусство. Далее всё просто. Полученные кристаллы подвергаются рентгеноструктурному

анализу, в результате которого исследователи получают координаты пространственного расположения атомов в белке-мишени.

Поскольку кристаллизация белков-мишеней очень важна для успешных работ по созданию прототипов новых лекарств, я надеюсь, что своё продолжение найдет комплексный проект по их кристаллизации в космосе, на российском сегменте МКС. В рамках данного проекта мы выполняли ОКР по заказу Роскосмоса. Речь шла о подготовке образцов белков-мишеней и перспективных вариантов веществ-прототипов для их кристаллизации в условиях космической невесомости и отсутствия тепловых конвекций, влияющих на рост кристаллов.

— Ваше мнение об этой конференции, что вас здесь особенно заинтересовало?

— Конференция проходит не впервые, и в этом году стало особенно заметно, что она меняется. На мой взгляд, это хорошо, наука не стоит на месте, и понятно, что в наше время не может быть одной «чистой» биоинформатики без геномики, протеомики и ряда других смежных дисциплин. Что автоматически означает — в области исследования живых систем не может быть чистой компьютерной науки без экспериментальной. Я всячески стараюсь пропагандировать интеграцию этих направлений, ведь зачастую акцент делается только на биоинформатику.

Интересны новые подходы в аннотации функции белков. По этой теме было сделано несколько докладов. Протеомика — наука, возникшая после геномики, и её первичная задача — инвентаризация белков, то есть экспериментальное подтверждение наличия конечного продукта (белка) для каждого гена. До последнего времени считалось, что организм человека настолько сложен, и в нём так много генов, что белков может быть несколько миллионов, и заниматься сквозной инвентаризацией их всех не представляется возможным. Но вот в 2000 г. был изучен и задокументирован полный геном человека. Прошло 9 лет, и научное сообщество задумалось о проекте «Протеом человека». Было создано международное протеомное сообщество (по типу геномного). Дело в том, что в отличие от генома, протеом человека более сложен, ведь в разных клетках и при их разных состояниях белки могут быть разные. Это очень большая работа, на которую международное сообщество решило «замахнуться». Был принят геноцентричный принцип деления разделов работы — по хромосомам. Америка выбрала 21 хромосому, Россия — 18, и еще несколько стран взяли по одной хромосоме для изучения. Задача состоит в том, чтобы исследовать все белки целевой хромосомы. Наш институт также подключился к этому проекту.

Недавно было принято решение на уровне Правительства РФ, что данные исследования нужно всячески поддерживать и не жалеть на них денег. Сейчас формируются два направления работы — участие России в международном проекте «Протеом человека» (исследование белков 18-ой хромосомы) и национальный проект исследования протеома человека. Думаю, что данные проекты станут точкой интеграции усилий различных научных учреждений разной ведомственной принадлежности. Несомненно свой большой вклад внесут и институты СО РАН и СО РАМН.