

МОЛОДЁЖЬ В НАУКЕ

АКТУАЛЬНО

Премия за изучение ферментов репарации

В нынешнем году молодой учёный из Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН к.х.н. Н.А. Кузнецов был удостоен премии имени ак. И.А. Терского за работу «Структурная динамика ферментов репарации — ключ сохранения генетической информации в живых организмах».

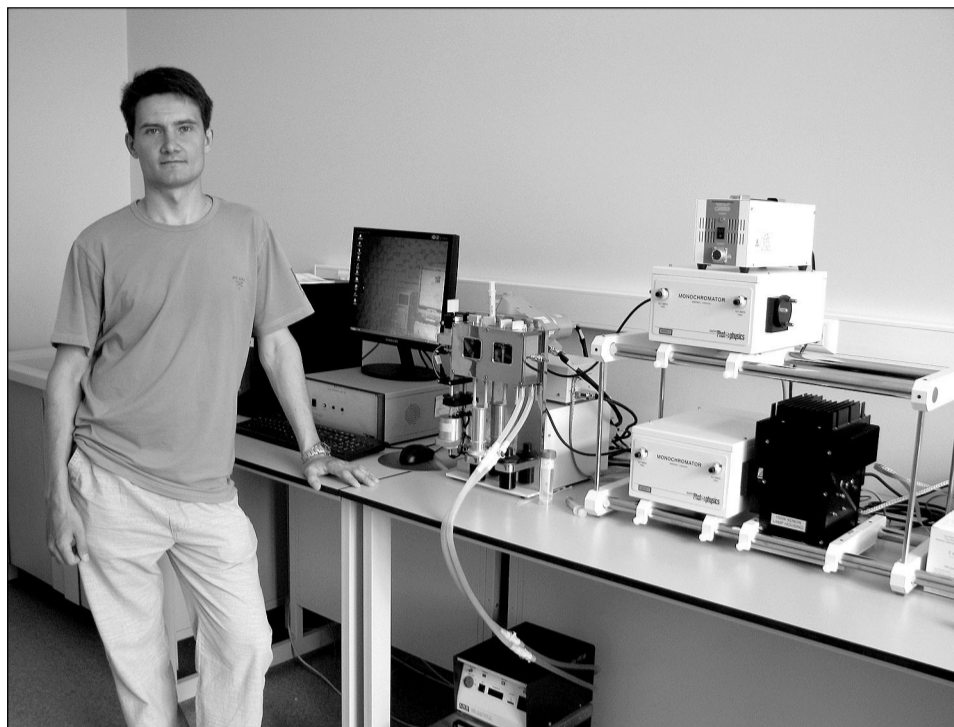
Данной тематикой выпускник факультета естественных наук НГУ, а ныне научный сотрудник лаборатории исследования модификации биополимеров (зав. лаб. — д.х.н. профессор О.С. Федорова) занимается не первый год. В 2007 г. он защитил кандидатскую диссертацию «Конформационные превращения фермент-субстратных комплексов в процессах, катализируемых 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазами из *E. coli* человека». В рамках этой же работы в 2010 году им был получен Президентский грант.

Впрочем, исследования, результаты которых отмечены наградами, начались в этой лаборатории достаточно давно. Ещё в 1998 году появился прибор остановленной струи, который позволяет исследовать быстрые ферментативные реакции в растворе. Тогда-то и стартовала работа в этом направлении. «Можно сказать, — говорит Никита Александрович, — что в самом начале исследований был пройден тяжёлый этап подбора экспериментальных условий — как и с чем работать, что нужно делать для того, чтобы получить результаты. В настоящее время одной из основных тематик нашей лаборатории является исследование механизмов поиска повреждённых участков ДНК ферментами репарации».

Исследования эти довольно многоплановые, но суть их заключается в следующем: оказывается, имеющиеся в организме повреждения молекулы ДНК, которые произошли по разным причинам (в том числе из-за неблагоприятных экологических условий), можно обнаружить с помощью особых ферментов. Для этого смешивают раствор ДНК, содержащих повреждённые участки разных типов, с раствором фермента, узнающим такие повреждения. Смешивание двух растворов происходит за доли секунды (примерно одна миллисекунда), и сразу же начинается регистрация оптических характеристик (флуоресценция, оптическое поглощение) в реакционной смеси. Учёные ИХБФМ, как правило, применяют для этих целей флуоресценцию, поскольку она обладает большей чувствительностью в используемых экспериментальных условиях. После смешения фермент взаимодействует с ДНК. Сначала происходит первичное связывание в месте повреждения, а последующие конформационные перестройки в структурах как ДНК, так и фермента приводят к формированию каталитически активного комплекса, в котором происходит удаление повреждения из ДНК. Установлено, что после того, как фермент находит повреждённый участок, запускается целый конформационный цикл: ДНК изгибается, повреждённое основание «выворачивается» из ДНК, некоторые аминокислотные остатки фермента встраиваются в структуру ДНК. Происходящие конформационные изменения приводят к изменению оптических свойств, которые и регистрируют учёные.

«Следует сказать, — замечает Н.А. Кузнецов, — что мы исследуем лишь небольшую часть возможных повреждений ДНК, а именно — окислительные, всего же их известно несколько десятков. Установлено, что в каждой клетке в течение часа могут возникнуть до тысячи различных повреждений. Однако на страже сохранности генетической информации стоит система репарации ДНК, состоящая из множества ферментов, которые превращают повреждения в нормальные основания. Первым и, несомненно, очень важным шагом на пути удаления повреждения из ДНК является его поиск среди огромного количества неповреждённых пар нуклеотидов. При удалении окислительных повреждений из ДНК этот шаг выполняют ДНК-гликозилазы, исследование которых занимается наша лаборатория».

Изучение ферментов репарации, как и многие подобные работы, носят, главным образом, фундаментальный характер. В результате этих изысканий учёные приближаются к пониманию процесса узнавания повреждений. Следующий этап —



научиться влиять на этот процесс. В этом плане у лаборатории уже есть определённые успехи: найдены соединения, которые могут как ускорять удаление повреждений (активаторы), так и наоборот, приводить к тому, что ферменты начинают плохо работать (ингибиторы) в присутствии каких-то низкомолекулярных соединений (речь идет о небольших органических молекулах). Впервые активатор ДНК-гликозилазы человека был найден американскими учёными-кристаллографами — они создали кристаллическую структуру фермента и предположили, что если в активном центре будут встроены определённые органические соединения, очень похожие по структуре на повреждённые основания ДНК, то может происходить ускорение реакции удаления повреждений.

Одно из этих соединений, ускоряющих реакцию, было в дальнейшем исследовано *in vitro* учёными Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Для этого они использовали метод остановленной струи. Факт ускорения реакции был подтвержден, кроме того, новосибирские исследователи установили, на какую стадию влияет это соединение в механизме реакции. Более того — пошли дальше, расширив спектр соединений, производных от исходного или его аналогов, и начали проводить скрининг этих соединений, отмечая их влияние на реакцию. В итоге было обнаружено соединение, которое обладает противоположным эффектом — не ускоряет, а, наоборот, замедляет реакцию.

И те, и другие соединения могут быть полезны. Ускоряющие реакцию, например, в случае, если известно, что на человека может быть оказано какое-то химическое воздействие, или что он получит дозу радиации, которая приведет к повреждению ДНК в организме. Тогда он заранее может принять «таблетку», которая будет активировать систему репарации, его организм сможет без ущерба принимать негативное воздействие. А с ингибиторами дело обстоит наоборот: при попадании ингибитора в организм ферменты станут работать плохо, и повреждения будут накапливаться. Это нужно, к примеру, при лечении онкологических заболеваний. Известно, что применяемые для лечения препараты, как правило, направлены на повреждение ДНК, поэтому, если у пациента хорошо работает система репарации, то действие лекарства будет снижаться за счет удаления образовавшихся повреждений. Поэтому ингибиторы ферментов репарации, применяемые одновременно с химиопрепаратами могут приводить к более эффективному действию последних.

Необходимо отметить, что ферментами репарации, удаляющими окислительные повреждения из ДНК человека, в мире за-

нимается очень небольшое количество научных групп. Кристаллографы из США изучают ферменты с точки зрения кристаллической структуры, делают разные комплексы этого фермента с повреждённой ДНК и, таким образом, получают «снимки» структуры фермента в разные моменты взаимодействия с ДНК. В отличие от них, новосибирцы проводят кинетические исследования и могут проследить динамику изменения конформации фермента, начиная от свободного состояния в растворе, его дальнейшее связывание с ДНК, процесс обнаружения им повреждения, удаление повреждённых оснований из ДНК.

Однако ферменты репарации — не единственное направление работы лаборатории исследования модификации биополимеров ИХБФМ. Существуют и активно поддерживаются другие тематики. Часть из них так или иначе связана с использованием метода быстрой кинетики, в основе которого — смешивание двух разных растворов и наблюдение за тем, что происходит при их взаимодействии. Например, одна из таких работ, по которой уже получены результаты, — изучение протеазы вируса иммунодефицита человека. Задача исследования состоит в изучении действия ингибиторов этого фермента.

«Одними из современных препаратов при лечении ВИЧ-инфицированных являются ингибиторы протеазы, — объясняет Н.А. Кузнецов. — Однако вирус, проявляющий повышенную способность к мутации своего генома, приспосабливается к действию лекарств, и перед нами стоит задача выяснить, почему часть лекарственных препаратов через определенное время перестает оказывать необходимое влияние. Кроме того, в настоящее время в нашей лаборатории проводятся работы с такими ферментами как протеаза сибирской язвы, фермент метионин-гамма-лиаза, ДНК-связывающие белки, названные Whirly, бактериальная фосфодиэстераза, тирозил-ДНК-фосфодиэстераза млекопитающих, фенилаланин-аминотрансфераза. Эти примеры демонстрируют широкий спектр использования метода быстрой кинетики для самых разнообразных целей и показывают степень сотрудничества как внутри института, так и за его пределами».

Последние несколько лет наша лаборатория активно работает в области применения масс-спектрометрии в протеомных и метаболомных исследованиях. Это новое направление науки, имеющее большую значимость не только для науки, но и для практической медицины. Масс-спектрометрия дает возможность одновременно анализировать сотни образцов на десятки различных заболеваний, что очень важно для проведения скрининга больших групп населения».

Ю. Александрова, «НВС»

Будущее за IP-телефонией

О том, насколько совершенна наша современная телекоммуникационная система и какое будущее ждёт в связи с этим СО РАН, корреспонденту «НВС» Елизавете Садыковой рассказал заведующий отделом информационных технологий Института нефтегазовой геологии и геофизики им.А.А. Трофимука Денис Викторович Косяков.

Несколько лет назад (в 2003—2004 гг.) в Сибирском отделении в рамках интеграционного проекта по информационным и телекоммуникационным ресурсам был реализован проект IP-телефонии на базе решений Avaya. Он не получил широкого распространения в силу ряда причин: оборудование было дорогое, подходы к построению сети передачи голоса не совсем корректные, и, скорее всего, задумка просто оказалась преждевременной.

Тем не менее, сейчас эта тема актуальна, как никогда. Многие институты поставили у себя внутренние учрежденческие АТС, но большинство остаётся на прямых телефонных линиях НГТС. Это дорого и неудобно — один телефонный номер зачастую приходится на целую лабораторию, размещающуюся в нескольких комнатах. Кроме того, проблемы существуют и с внутренней связью. И сейчас институты пытаются эти проблемы решать, причем каждый по-своему.

Цифровая связь изначально предполагает более высокое качество и широкий набор услуг: гибкую переадресацию звонков, возможность устраивать конференции, возможность организации видеоконференций, автоинформаторов и т.д.

Например, в ИНГГ СО РАН развёрнут сервер Microsoft Лync. С 2004 года мы использовали предыдущие версии этого продукта для мгновенных сообщений и обмена файлами. В 2009 году, с внедрением версии MS OCS2007R2 стали активно использовать голосовые возможности и видеосвязь. А в прошлом году начали интеграцию с городской телефонной сетью. И сейчас сотрудник, работая за своим компьютером, имеет полноценный доступ к телефонной связи, может пользоваться мгновенными текстовыми сообщениями, предоставить доступ коллегам к рабочему столу своего компьютера или каким-либо приложениям в случаях совместной работы над документом и т.д. Более того, эти возможности доступны и сотрудникам, работающим дома или находящимся в командировках. На данный момент мы работаем с телекоммуникационной компанией «Авантел».

Безусловно, если будет запущен вариант для всего Сибирского отделения, необходимо организовать программу дистанционного или очного обучения пользователей, размещать учебные и методические материалы.

Но, как показывает опыт, люди, которые работают с компьютером, вполне спокойно воспринимают нововведения. Может быть, не в полном объёме, но вполне достаточно для выполнения базовых операций.

В ИНГГ в программном варианте система работает в полном объёме с начала года. С установкой новой АТС, планируемой на лето, мы собираемся провести интеграцию программного и аппаратного решений. Решение этих вопросов в рамках каждого отдельного института довольно проблематично, особенно для небольших организаций. В случае реализации проекта для группы институтов, для всего Сибирского отделения стоимость внедрения будет ниже, обслуживание — проще. Возникнет и синергетический эффект — значительно упростятся коммуникации между сотрудниками разных институтов, работающих в составе групп по интеграционным проектам, грантам РФФИ и другим совместным работам.