

# На передовом рубеже мировой науки

д.б.н. А.В. Зеленин, д.б.н. В.Л. Карпов

Создание и организация Института молекулярной биологии (в течение первых шести лет он носил название Института радиационной и физико-химической биологии Академии наук СССР) неразрывно связаны с именем выдающегося биохимика и молекулярного биолога XX столетия академика Владимира Александровича Энгельгардта. Широкую известность и мировое признание как ученый Владимир Александрович получил еще в 30-е годы за открытие процесса окислительного (дыхательного) фосфорилирования с участием АТФ. В начале 40-х он вновь прославился, когда вместе со своей женой, Милицей Николаевной Любимовой, открыл ферментативную активность мышечного белка миозина, что привело Владимира Александровича к концепции совмещения структуры и функции биологических соединений на уровне индивидуальных молекул. Эти работы вошли в золотую сокровищницу науки, и Владимир Александрович по праву относится к числу основателей молекулярной биологии в нашей стране.

## К ПЯТИДЕСЯТИЛЕТИЮ ИНСТИТУТА МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ ИМ. В.А. ЭНГЕЛЬГАРДТА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

В середине 50-х годов он осуществил крутой поворот в своей научной карьере, став академиком-секретарем Отделения биологических наук Академии наук СССР. Естественно, что ему сразу пришлось включиться в работу по восстановлению и укреплению практически разрушенной в стране экспериментальной биологии и генетики. Важнейшим этапом этого процесса он считал создание первого в стране специализированного молекулярно-биологического института, что ему и удалось сделать при решительной поддержке президента АН СССР А.Н. Несмеянова и группы выдающихся физиков – И.В. Курчатова, П.Л. Капицы и И.Е. Тамма. Постановление президиума Академии наук СССР о создании нового института молекулярно-биологического профиля было принято в апреле 1957 года, но фактически этот институт начал работать двумя годами позже.

В.А. Энгельгардт сумел привлечь в Институт молекулярной биологии (ИМБ) плеяду выдающихся ученых, среди которых в первую очередь необходимо назвать биохимиков А.Е. Браунштейна и А.А. Баева, цитогенетика А.А. Прокофьеву-Бельговскую, клеточного биолога М.Н. Мейселя, биофизика М.В. Волькенштейна, физика Л.А. Тумермана, кристаллографа Н.С. Андрееву. Одновременно с ними пришло много молодых ученых, заинтересовавшихся новой наукой, и выпускников различных вузов.

Из молодого поколения лидеров необходимо назвать Г.П. Георгиева, А.Д. Мирзабекова, А.А. Краевского, Р.М. Хомутова, Л.Л. Киселева. В результате уже через короткий промежуток времени, к моменту приобретения институтом своего нынешнего названия он представлял собой сложившийся активно работающий коллектив, усилия которого сконцентрировались вокруг определенного круга тем. Среди таких тем следует отметить исследования структуры и механизмов биосинтеза нуклеиновых кислот, первичной и пространствен-

ной структур белков и их комплексов, а также механизмов их функционирования на уровне молекул в системах *in vitro*, в вирусах и клетках. Данная проблематика определила основное направление деятельности института на многие годы, правда, в ходе дальнейшего развития она подвергалась значительной модификации.

Институт начал приобретать все большую известность не только в нашей стране, но и за рубежом. В связи с этим в первую очередь следует упомянуть расшифровку первичной структуры валиновой транспортной РНК, выполненную под руководством А.А. Баева. Это была первая структура биополимера, расшифрованная в нашей стране, и шестая в мире первичная структура тРНК. Среди успехов последующих лет следует также отметить цикл разносторонних исследований по изучению передачи информации в клетках эукариот, механизмов регуляции экспрессии генов и природы мобильных генетических элементов дрозофилы, по расшифровке структуры хроматина, установление с высоким разреше-



нием третичной структуры пепсина и ряда других белков. Развитие получили разработки биохимических основ биосинтеза белков, химических основ биокатализа и физики биополимеров, а также создание новых направленных ингибиторов биологических процессов. Созданный под руководством А.А. Краевского препарат фосфазид («Никавир») стал важным лекарством, которое используется для помощи больным иммунодефицитом человека и способствует продлению их жизни. Работы коллектива А.А. Прокофьевой-Бельговской заложили основу медико-генетической службы в нашей стране.

Во второй половине 80-х – начале 90-х годов произошла значительная модификация тематической направленности деятельности института. Была создана современная приборная база для интенсификации работ по молекулярной биологии клетки, развернуты исследования в таких новых направлениях, как иммуноонкология, иммуногенетика, а усилиями А.Д. Мирзабекова были инициированы работы по развитию технологии биологических микрочипов. Эти исследования активно проводятся в институте и в настоящее время. Большую известность приобрела двухсторонняя

российско-американская лаборатория (Институт молекулярной биологии в Москве и Аргоннская национальная лаборатория в Чикаго, являющаяся одним из ведущих центров по развитию атомной энергетики и наиболее актуальных проблем фундаментальной науки США). В результате деятельности этого международного коллектива на базе разработок ИМБ была создана технология гелевых микрочипов, приобретающих все большую востребованность в молекулярной диагностике инфекционных и онкологических заболеваний.

Создавая институт, В.А. Энгельгардт положил в его основу принцип «трех китов» молекулярной биологии того времени – проведение исследований на стыке физики, химии и биологии.

Почти сразу с момента организации институт стал центром кристаллизации сил отечественных ученых, занимавшихся или интересовавшихся молекулярной биологией. Этому способствовали многочисленные школы, конференции и совещания, организованные институтом. В результате Институт молекулярной биологии занял одно из первых мест в ряду учреждений, способствовавших возрождению биологической

науки в стране. Следует подчеркнуть важную роль в развитии отечественной науки программы «Ревертаза» и советской (позднее российской) программы «Геном человека».

Основными направлениями научной деятельности института в настоящее время являются:

- структура и функция нуклеиновых кислот, белков и их комплексов;
- структурная и функциональная геномика;
- молекулярная биология клетки;
- молекулярная иммунология;
- бионанотехнологии и основы медицинской диагностики.

В институте выполнен ряд работ, внесших значительный вклад в мировую молекулярную биологию, в развитие современных представлений о физико-химических основах живых систем. Невозможно полностью в данном кратком обзоре осветить широкий спектр исследований, проводимых в ИМБ, поэтому приходится останавливаться только на некоторых, заслуживающих особого внимания.

Успешно проводятся исследования на стыке наук: молекулярной иммунологии, молекулярной генетики, биорганической химии, биотехнологии, медицины. Основные интересы и направления деятельности: физиологические функции, механизмы действия и регуляции цитокинов – белковых медиаторов иммунной системы, включающие механизмы активации цитокинов, в т.ч. всю цепочку передачи сигнала, начиная с активации рецепторов врожденного иммунитета, а также защитные и патологические свойства цитокинов семейства фактора некроза опухоли (ФНО). В частности, созданы уникальные живые системы – мышцы с выключением гена ФНО в отдельных клетках иммунной системы [1], мышцы с выключением гена лимфотоксина [2]. С использованием этих мышц получены новые результаты, важные для физиологии и медицины [3–5]. Прикладные аспекты данных исследований связаны с характеристикой новых раковых антигенов человека и возможностью их использования для диагностики и мониторинга онкологических заболеваний, а также с получением новых терапевтических препаратов.

Сотрудниками института выявлена важная профилактическая функция

гена р53 – его способность работать в клетке в качестве антиоксиданта, снижать уровень кислородных радикалов. Это достигается за счет зависимой от р53 настройки антиоксидантных защитных систем, спасающих ДНК клетки от повреждений, которые возникают при физиологических нагрузках. В результате показано, что р53 существенно замедляет процесс приобретения мутаций, что обеспечивает профилактику злокачественных заболеваний и преждевременного старения [6, 7]. Разработан прототип нового противоопухолевого средства: малая молекула RETRA, с высокой избирательностью убивающая опухолевые клетки за счет активации белка р73 [8]. Открыта четвертая ядерная РНК полимеразы, осуществляющая транскрипцию части мРНК в клетках животных и человека [9].

Активные работы проводятся в области регуляции генной транскрипции на примере дрозофилы. В этом направлении достигнуты значительные успехи. Открыт новый белковый комплекс дрозофилы, связывающийся с ядерными порами и отвечающий за экспорт мРНК из ядра. Было показано, что транскрипционный фактор E(y)2, являющийся компонентом данного комплекса, присутствует в мультибелковом транскрипционном комплексе SAGA и обеспечивает связь между транскрипцией и экспортом мРНК активно работающих генов, т.е. был открыт новый механизм, обеспечивающий эффективную экспрессию гена [10–12]. Установлено, что активатор транскрипции TRF2, содержащий домен, гомологичный промотор-связывающему домену основного активатора транскрипции белка TBP, играет важную роль в поддержании структуры хроматина и необходим для его конденсации [13].

Продолжаются исследования в традиционно успешном для института направлении – изучении механизмов трансляции. В последние годы была разработана система, позволяющая *in vitro* анализировать вклад любого компонента трансляционного комплекса на разных этапах белкового синтеза. Показано, что гидролиз ГТФ предшествует гидролизу пептидил-тРНК при терминации трансляции, а eRF3 резко ускоряет эту реакцию [14]. В структуре факторов термини-

зации первого класса бактерий, эукариот и архей N-домен ответствен за узнавание стоп-кодона мРНК, C-домен – за связывание с eRF3, а в M-доме обнаружен универсальный GGQ мотив, необходимый для гидролиза пептидил-тРНК в рибосоме. Показано, что белок eRF3 обладает ГТФ-активностью, зависящей от eRF1 и рибосом, и образует *in vitro* комплекс с eRF1. Установлена роль гуаниловых нуклеотидов в функционировании элонгационного фактора трансляции EF-G [15, 16].

Сотрудниками ИМБ открыт новый класс мобильных генетических элементов, названный «Пенелопа-подобные элементы» [17]. Представители этого класса встречаются в сотнях видов животных от коловраток до рыб и рептилий. Показано, что элемент «Пенелопа» отвечает за синдром гибридного дисгенеза у *Drosophila virilis*. Предложена модель хромосомного видообразования, в которой ведущая роль отводится мобильным элементам, способным при определенных условиях приводить к «взрыву» изменчивости.

Широкое развитие получили работы в области биоинформатики, так, например, обнаружена связь феноменов геномного полиморфизма и альтернативного сплайсинга, обеспечивающих многообразие протеома человека [18]. Был разработан вычислительный метод для предсказания эффекта замены аминокислот в белках, создана база данных функциональных полиморфизмов белков в геноме человека (<http://www.snpr.imb.ac.ru>) [19].

Фундаментальные научные разработки сотрудников ИМБ используются в прикладных областях. Инициированная и разработанная под руководством академика А.Д. Мирзабекова технология гелевых биочипов получила дальнейшее инновационное развитие и доведена до запатентованной и внедренной в медицинскую практику высокотехнологичной продукции, которая позволяет проводить экспресс-диагностику социально значимых инфекционных, онкологических, сердечно-сосудистых и наследственных заболеваний, а также выявлять особо опасные инфекции и продуцируемые ими биотоксины [20, 21]. Организовано опытное производство, позволяющее изготавливать

несколько тысяч биочипов в день. Сконструирован и зарегистрирован в Росздравнадзоре для медицинского применения анализатор биочипов, а также ряд тест-систем на основе биочипов для различных приложений в медицинской диагностике, включая тест-систему для генотипирования 36 подтипов гепатита С (международная заявка на патент РСТ/RU2007/000438 совместно с Университетом и госпиталем г. Тулуза) [22]. Разработан метод количественного определения белков на основе совмещения технологии биочипов и время-пролетной масс-спектрометрии [23].

Тест-системы на основе биочипов позволяют идентифицировать и анализировать: чувствительность микобактерий туберкулеза к лекарственным препаратам; вирусы иммунодефицита человека (HIV-1), гепатитов В и С (36 подтипов), гриппа А (30 подтипов, включая птичий грипп H5N1 и свиной грипп H1N1), простого герпеса (2 подтипа), оспы (6 подтипов); возбудитель сибирской язвы; белковые маркеры онкозаболеваний (12 онкомаркеров) и биотоксины (9 типов); хромосомные aberrации, определяющие 13 типов лейкозов; индивидуальный фармакогенетический статус, генетическую предрасположенность к определенным онкологическим, сердечно-сосудистым и наследственным заболеваниям; генетические маркеры личности (18 маркеров, определяющих более 1000 вариантов генома человека). Биочипы для определения возбудителя туберкулеза и выявления его лекарственно-устойчивых форм позволили сократить время анализа с 6–10 недель до нескольких часов и оперативно назначать адекватную терапию. Биочип-диагностика применяется более чем в 30 противотуберкулезных центрах России и стран СНГ. Биочипы для типирования хромосомных aberrаций при онкозаболеваниях крови сертифицированы и применяются для уточнения прогноза и выбора стратегии лечения в Российской детской клинической больнице (Москва), проводящей анализ образцов, поступающих из 18 региональных гематологических центров РФ.

Создан метод проведения ПЦР в ячейках биочипа в реальном времени, что позволяет не только обнаруживать в образце патогенные бактерии,

вирусы, раковые клетки, но и оценивать одновременно их количество по всему анализируемому множеству [24]. Разрабатывается автоматизированное устройство на основе сменных модулей для выделения микроколичеств нуклеиновых кислот из биологических образцов. Последующая интеграция такого модуля и системы для проведения ПЦР на биочипе с детекцией в режиме реального времени приведет к появлению принципиально нового устройства – лаборатории-на-чипе. Конструкция такого устройства будет исключать контакт анализируемого образца с внешней средой, что существенно снижает вероятность заражения персонала и возникновения контаминации.

Совместно с Институтом спектроскопии РАН разработаны и защищены девятью патентами аналитические системы на базе портативного дихрометра, которые позволяют обнаруживать наличие различных соединений в анализируемых средах. На основе жидкокристаллических дисперсий нуклеиновых кислот разработаны наноконструкции, которые могут вы-

ступать в качестве носителей атомов тяжелых элементов для нейтрон-захватывающей терапии опухолевых заболеваний.

К прикладным работам можно отнести также исследования по геномной дактилоскопии, позволившие провести генетическую идентификацию останков императора Николая II и членов его семьи. Успешно продолжают работы по разработке антивирусных препаратов, в основе которых лежит оригинальный отечественный анти-ВИЧ-препарат «Никавир». Получен ряд новых ингибиторов репликации вируса гепатита С, создан аналог антигерпетического препарата ацикловира, подавляющий репликацию штаммов вируса герпеса, устойчивых к ацикловиру [25].

За достижения в области фундаментальной и прикладной науки сотрудники ИМБ РАН в разное время отмечены двумя Ленинскими и восемью Государственными премиями, Демидовской премией, премией Федерации европейских биохимических обществ (FEBS) и другими многочисленными наградами. Молодые ученые инсти-

тута неоднократно получали премии Ленинского комсомола, а также были удостоены Государственной премии РФ в области науки и техники.

В отзывах зарубежных ученых в связи с юбилеем института был высоко оценен вклад ИМБ РАН в развитие современной молекулярной биологии, в частности, было отмечено, что в Институте им. Энгельгардта работают талантливые исследователи и что даже в самые трудные годы сотрудники института сохраняли представление об универсальности науки, не знающей государственных границ, и сумели внести большой вклад в развитие молекулярной биологии [26].

Институт молекулярной биологии вступает в шестой десяток своего существования как первоклассное научное учреждение, имеющее все необходимое для проведения исследований в области молекулярной и клеточной биологии на мировом уровне. Научные работы поддерживаются множеством отечественных и зарубежных грантов, а многочисленная научная молодежь позволяет с надеждой и уверенностью смотреть в будущее. ●

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Grivennikov S.I., Tumanov A.V., Liepinsh D.J., Kruglov A.A., Marakusha B.I., Shakhov A.N., Murakami T., Drutskaya M.S., Förster I., Clausen B.E., Tassarollo L., Ryffel B., Kuprash D.V., Nedospasov S.A. Distinct and non-redundant in vivo functions of TNF produced by T cells and macrophages/ neutrophils: protective and deleterious effects. *Immunity*. 2005. 22. 93–104.
- Liepinsh D.J., Grivennikov S.I., Lagarkova M.A., Drutskaya M.S., Klarmann K.D., Lockett S.J., McAuliffe M., Tassarollo L., Keller J.R., Kuprash D.V., Nedospasov S.A. Novel lymphotoxin alpha knockout mice with unperturbed TNF expression: reassessing LTalpha biological functions. *Mol Cell Biol*. 2006. 26. 4214–4225.
- Cui C.-Y., Hashimoto T., Grivennikov S.I., Piao Y., Nedospasov S.A., and Schlessinger D. Ectodysplasin activates the lymphotoxin-beta pathway for hair follicle differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006. 103. 9142–9147.
- Welniak L.A., Kuprash D.V., Tumanov A.V., Panoskaltzis-Mortari A., Blazar B.R., Sun K., Nedospasov S.A., and Murphy W.J. Peyer's patches are not required for acute lethal graft-versus-host disease after myeloablative conditioning and murine allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*. 2006. 107. 410–412.
- Tumanov A.V., Koroleva E.P., Christiansen P.A., Khan M.A., Ruddy M.J., Burnette B., Papa S., Franzoso G., Nedospasov S.A., Fu Y.X., Anders R.A. T cell-derived lymphotoxin regulates liver regeneration. *Gastroenterology*. 2009. 136. 694–704.
- Sablina A.A., Budanov A.V., Ilyinskaya G.V., Agapova L.S., Kravchenko J.E., Chumakov P.M. The antioxidant function of the p53 tumor suppressor. *Nat. Medicine*. 2005. 11. 1306–1313.
- Budanov A.V., Sablina A.A., Feinstein E., Koonin E.V., Chumakov P.M. Regeneration of peroxiredoxins by p53-regulated sestrins, homologs of bacterial AhpD. *Science*. 2004. 304. 596–600.
- Kravchenko J.E., Ilyinskaya G.V., Komarov P.G., Agapova L.S., Kochetkov D.V., Strom E., Frolova E.I., Kovriga I., Gudkov A.V., Feinstein E., Chumakov P.M. Small molecule RETRA suppresses mutant p53-bearing cancer cells through a p73 dependent salvage pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2008. 105. 6302–6307.
- Kravchenko J.E., Rogozin I.B., Koonin E.V., Chumakov P.M. Transcription of mammalian mRNAs by a novel nuclear RNA polymerase of mitochondrial origin. *Nature*. 2005. 436. 735–739.
- Shidlovskii Y.V., Krasnov A.N., Nikolenko J.V., Lebedeva L.A., Kopantseva M., Ermolaeva M.A., Ilyin Yu.V., Nabirochkina E.N., Georgiev P.G. and Georgieva S.G. A novel multidomain transcription coactivator SAYP can also repress transcription in heterochromatin. *EMBO Journal*. 2005. 24. 97107.
- Kurshakova M., Krasnov A., Kopytova D., Shidlovskiy Y., Nikolenko J., Nabirochkina E., Splender D., Schultz P., Tora L., Georgieva S. SAGA and a novel Drosophila export complex anchor efficient transcription and mRNA export to NPC. *EMBO J*. 2007. 26. 4956–4965.
- Krasnov A., Kurshakova M., Ramensky V., Mardanov P., Nabirochkina E., Georgieva S. A retrocopy of a gene can functionally displace the source gene in evolution. *Nucleic Acids Res*. 2005. 33. 6654–6661.
- Kopytova D., Krasnov A., Kopantseva M., Nabirochkina E., Nikolenko J., Kurshakova M., Lebedeva L., Korochkin L., Tora L., Georgiev P., Georgieva S. The two isoforms of Drosophila TRF2 are essential for embryonic development, premeiotic chromatin condensation and proper differentiation of germ cells of both sexes. *Mol. Cell. Biol*. 2006. 26. 7492–7505.
- Alkalaeva E.Z., Pisarev A.V., Frolova L.Yu., Kisselev L.L., Pestova T.V. In vitro reconstitution of eukaryotic translation reveals cooperativity between release factors eRF1 and eRF3. *Cell*. 2006. 125. 1125–1136.
- Mitkevich V., Kononenko A.V., Petrushanko I.Yu., Yanvarev D.V., Makarov A.A., Kisselev L.L. Termination of translation in eukaryotes is mediated by the quaternary eRF1·eRF3·GTP·Mg2+ complex. The biological roles of eRF3 and prokaryotic RF3 are profoundly distinct. *Nucleic Acids Res*. 2006. 34. 3947–3954.
- Haurlyuk V., Mitkevich V.A., Eliseeva N.A., Petrushanko I.Yu., Ehrenberg M., Makarov A.A. The pretranslocation ribosome is targeted by GTP-bound EF-G in partially activated form. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2008. 105. 15678–15683.
- Pyatkov K.I., Arkhipova I.R., Malkova N.V., Finnegan D.J., Evgen'ev M.B. Reverse transcriptase and endonuclease activities encoded by Penelope-like retroelements. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004. 101. 14719–14724.
- Ramensky V.E., Nurtudinov R.N., Neverov A.D., Mironov A.A., Gelfand M.S. Positive selection in alternatively spliced exons of human genes. *Am J Hum Genet*. 2008. 83. 94–98.
- Sunyaev S., Kondrashov F.A., Bork P., Ramensky V. Impact of selection, mutation rate and genetic drift on human genetic variation. *Hum Mol Genet*. 2003. 12. 3325–3330.
- Mikhailovich V., Gryadunov D., Kolchinsky A., Makarov A.A. and Zasedatelev A. DNA microarrays in the clinic: infectious diseases. *Bioessays*. 2003. 30. 673–682.
- Rubina A.Yu., Kolchinsky A., Makarov A.A., Zasedatelev A.S. Why 3D? Gel-Based Microarrays in Proteomics. *Proteomics*. 2008. 8. 817–831.
- Gryadunov D.A., Mikhailovich V.M., Nicot F., Dubois M., Zasedatelev A.S., Izopet J. Method for identifying the genotype and subtype of hepatitis C virus on a biological microchip. *International Application Number PCT/RU2007/000438*.
- Darii E., Lebeau D., Papin N., Rubina A.Y., Stomakhin A., Tost J., Sauer S., Savvateeva E., Dementieva E., Zasedatelev A., Makarov A.A. and Gut I.G. Quantification of target proteins using hydrogel antibody arrays and MALDI time-of-flight mass spectrometry (A2M2S). *New Biotechnology*. 2009 (in press).
- Khodakov D.A., Zakharova N.V., Gryadunov D.A., Filatov F.P., Zasedatelev A.S., Mikhailovich V.M. An oligonucleotide microarray for multiplex real-time PCR identification of HIV-1, HBV, and HCV. *Biotechniques*. 2008. 44. 241–248.
- Karpenko I.L., Jasko M.V., Andropova V.L., Ivanov A.V., Kukhanova M.K., Galegov G.A., Skoblov Y.S. Synthesis and antihelptic activity of acyclovir phosphonates. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2003. 22. 319–328.
- Юбилейная брошюра, посвященная 50-летию образования Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН.