

References

1. Anisimov A.P. *Yersinia pestis* factors, assuring circulation and maintenance of the plague pathogen in natural foci ecosystems. Report 1. Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya. [Molecular Genetics, Microbiol. and Virol.], 2002; 3: 3 – 23. (in Russian).
2. Dubrovina V.I. Phagocytosis mechanisms and its role in resistance formation to *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis* and *Francisella tularensis* (experimental studying): Thesis ... Doctor of Med. Sci. Irkutsk, 2004: 261 (in Russian).
3. Bugorkova S.A., Devdariani Z.L., Shchukovskaya T.N., Kutyrev V.V. Historical and modern views on the problem of specific plague prophylaxis. Problemy osobo opasnykh infekcij [Problems of especially dangerous infections]. 2013; 3: 63 – 69 (in Russian).
4. Dubrovina V.I., Konovalova Z.A., Vityazeva S.A., Markov E.Yu., Balakhonov S.V., Zagoskina T.Yu. Plague: questions of pathogenesis and immunogenesis. Irkutsk; 2016: 56 (in Russian).
5. Byvalov A.A., Kutyrev V.V. Current state of problem of improving tools for plague vaccine prophylaxis. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii [Zh. microbiology, epidemiology and immunobiology]. 2011; 2: 97 – 104 (in Russian).
6. Vityazeva S.A., Balakhonov S.V., Dubrovina V.I., Markov E.Yu., Polovinkina V.S. Actual problems of plague and anthrax prevention improvement. Epidemiology & Vaccinoprofilaktika. Epidemiology & Vaccinal Prevention. 2013; 4: 63 – 66 (in Russian).
7. Markov E.Yu., Polovinkina V.S. Structure and immunoadjuvant properties of CpG-DNA. Medicinskaja immunologija [Meditsinskaya immunologia]. 2010; 12 (6): 469 – 476 (in Russian).
8. Naktinis V.I., Maleeva N.E., San'ko D.F. Two simple methods for DNA extraction from various sources using cetavlon. Biokhimiya [Biochemistry]. 1977; 42 (10): 1783 – 1789 (in Russian).
9. Nikolaev V.B., Ivanova T.A., Polovinkina V.S., Sappo S.G., Popova Ju.O., Markov E.Ju., Golubinskij E.P. Method for preparing immunogenic preparation from *Yersinia pestis* EV. Patent RF, N 2248217; 2003 (in Russian).
10. Voitkova V.V., Dubrovina V.I., Ivanova T.A., Mukhturgin G.B., Korytov K.M., Balakhonov S.V. Disinfection of blood samples containing *Yersinia pestis* for flow cytometric studies: Methodical recommendations. Irkutsk: Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East; 2015: 14 (in Russian).
11. Mukhturgin G.B., Vityazeva S.A., Voitkova V.V. Cellular composition of peritoneal fluid white mice infected with *Yersinia pestis* with different plasmid composition. Infekcija i immunitet [Infection and immunity]. 2014; 4 (1): 80.

КОРОТКОЙ СТРОКОЙ

Ученые переписывают геном кишечной палочки

Биологи из Гарварда, Массачусетского технологического института и нескольких других американских институтов представили планы работы над полногеномной заменой генетического кода кишечной палочки, что в перспективе позволит создать искусственную бактерию, неспособную размножаться вне пределов лаборатории.

Исходя из того, что каждые три нуклеотида (кодон) кодируют одну и ту же аминокислоту, ученые решили заменить некоторые (преимущественно редкие) кодоны их синонимами, причем сделать это во всем геноме полноценной бактерии. При достаточно большом количестве выкинутых кодонов (по крайней мере более трех) она, например, была бы полностью устойчива к любым существующим вирусам, поскольку вирусная генетическая информация в ней стала бы просто «нечитаема». Соответственно и получать полезную, но не «адаптированную», генетическую информацию из внешней среды (гены устойчивости к антибиотикам и т. д.) она бы не могла, что важно для биотехнологического применения. Кроме того, в белки такой бактерии можно вводить искусственные, не встречающиеся в природе аминокислоты и химические группы, например, для синтеза каких-то новых лекарств или промышленных веществ. Причем делать это можно стандартными молекулярно-биологическими методами, не разрабатывая новые.

Сложность создания такой бактерии заключается в том, что нужно заменить выбранные триплеты ДНК во всем геноме и сделать это не для одного гена, а для всего генома. Ранее подобные работы по замене кодонов уже проводились, но масштаб их был существенно меньше. Когда речь идет о замене семи кодонов во всем геноме, как это запланировано в настоящей работе, это не только требует введения очень большого числа изменений (148 955 нуклеотидных замен), но и грозит

возникновением разнообразных непредвиденных негативных эффектов, которых при работе только со стоп-кодонами не бывает.

Ученые отобрали семь достаточно редких кодонов, которые можно было бы удалить вместе с распознающей их тРНК. Затем авторы создали программу, которая позволяет на основе известной последовательности генома (использовалась уже минимизированная, «очищенная» версия генома кишечной палочки) заменить выкидываемые кодоны на их синонимы.

При выборе замены учитывалось множество факторов, которые потенциально могут повлиять на жизнеспособность организма: ученые старались предсказать и максимально сохранить важные свойства исходной ДНК. Например, программой корректировалась доля GC-нуклеотидов (она влияет на механическую жесткость ДНК и многое другое), сохранялись сайты прикрепления рибосом и те места в матричной РНК, где она образует вторичную структуру.

В результате программа выдавала несколько тысяч отредактированных фрагментов, которые уже синтезировали химическим способом в цепочки длиной 2 – 4 тыс. оснований.

В итоге на момент публикации ученые проверили работоспособность 63% синтетического генома (он получил название *rE. coli-57*), причем 91% проверенных генов сохранил свою работоспособность. Однако работа над синтетическим геномом на этом еще не закончена (возможно, из-за финансовых трудностей). Общую стоимость проекта авторы оценивают в один миллион долларов.

Информацию предоставил Н.И. БРИКО

Источник: Nili Ostrov et al. Design, synthesis, and testing toward a 57-codon genome. *Science*, 2016; DOI: 10.1126/science.aaf3639