

СИНТЕЗ DE NOVO ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ГЕНОМА. ТЕХНОЛОГИЯ, О КОТОРОЙ МЕЧТАЛИ, РЕАЛИЗОВАНА ВПЕРВЫЕ В КАЗАХСТАНЕ

Т.Ж. Кулатай

Национальный центр биотехнологии, Республика Казахстан, 000010, г. Астана, Кургальжинское шоссе 13/5

e-mail: kulatay@biocenter.kz

XXI век стал эпохой слияния ранее считавшихся отдельными отраслями биологических дисциплин в единую область знания, называемую “науки о жизни”. Постепенно размывается граница между биофизической химией и генной инженерией, они образуют единую “синтетическую биологию”. В вакцинологии тоже происходят важные изменения: мы наблюдаем внедрение в медицинскую практику, для вакцинации населения, новых типов иммуногенов, которые не так давно рассматривались как исключительно академические исследовательские разработки. Пандемия коронавирусной инфекции COVID-19 буквально перевернула игральные столы, если под этой игрой понимать конкуренцию между устоявшимися традиционными и экспериментальными инновационными дизайнами вакцин. Коронавирусные вакцины, произведённые Moderna и консорциумом Pfizer/BioNTech, как и российская вакцина “Спутник V”, не подобны по дизайну любым вакцинам, которые применялись в практическом здравоохранении в доковидную эпоху. Что принципиально отличает эти новые типы, от ранее применявшихся типов вакцин: инжиниринг. Принципиальное отличие в том, что новые вакцины не пытаются воспроизвести патогены, против которых создаётся вакцина, в их физическом виде, или преобразовать природные патогены, взяв их за основу для модификации. В новых вакцинах (Moderna, Pfizer/BioNTech, “Спутник V”) генетическая инженерия была успешно применена для создания принципиально новых объектов со свойствами иммуногенов, которым нет сравнимых аналогов в живой природе. Очень быстрые, в течение нескольких месяцев после начала пандемии, разработка и организация производства этих новых вакцин стали возможны, потому что в соответствующих

странах были накоплены компетенции у компаний-разработчиков. В Казахстане существует дефицит мощностей для разработки вакцин новых типов, интенсивно использующих генно-инженерные дизайны. Производство мРНК-вакцин требует целого комплекса взаимосвязанных технологий, в этом отношении векторные вакцины, в том числе не-репликативно-компетентные (как “Спутник V”) проще и доступнее для внедрения в Казахстане.

Авторы в НЦБ создали технологическую платформу для быстрой разработки векторных вакцин, использующих репликоны РНК-вирусов в качестве векторов, и несущих гетерологические гены под контролем вирусных РНК-промоторов. Платформы созданы и работают путём конструирования de novo нужных генов и фрагментов геномов. Протяжённые олигонуклеотиды синтезируются твердофазным фосфиттриэфирным методом, который позволяет устойчиво производить 60- и 80-мерные олигонуклеотиды на колонках 50 нМ. Очистка олигонуклеотидов для синтеза гена de novo проводится гель-электрофорезом. Синтез de novo фрагментов ДНК осуществляется в реакции конструктивной ПЦР, таким образом сейчас удаётся синтезировать фрагменты длиной до 2000 bp. Полученные ПЦР-амплификаты клонируются в плазмиды. После подтверждения правильности структуры вставки, синтетические фрагменты используются для сборки протяжённых фрагментов, так были синтезированы фрагменты геномов ряда РНК-содержащих вирусов несущие гены репликативной машины и cis-действующие последовательности. Так сконструированы ДНК-запускаемые молекулярные инфекционные клоны РНК-репликонов (DREP), удобные для генетической инженерии и используемые для дизайна кандидатов вакцин.