

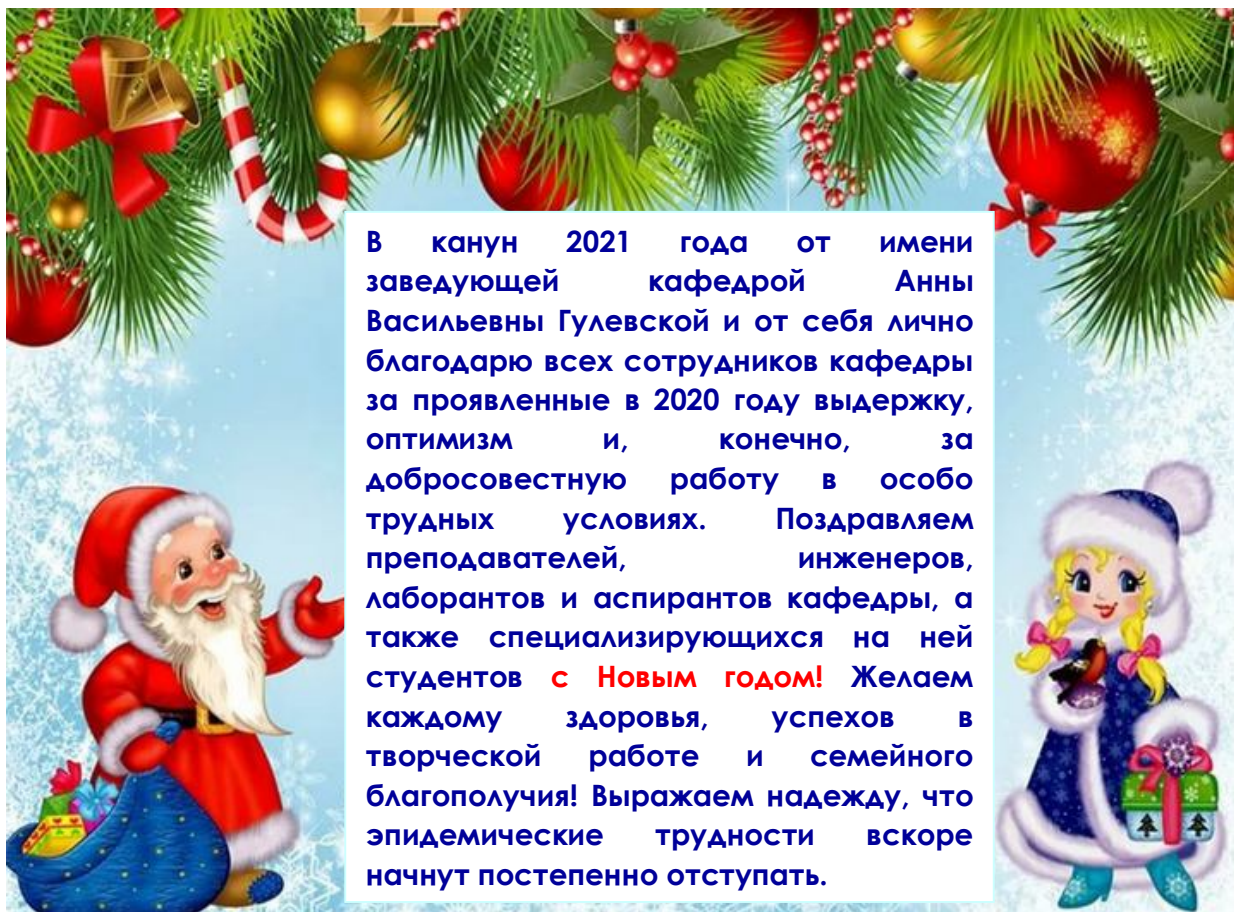


215

Кафедра органической химии в 2020 году

Впервые за 42 года существования «Органикума», в уходящем году был выпущен лишь один (февральский) номер вместо традиционных 5–6 номеров. Год тому назад, поднимая новогодние бокалы за счастье и успехи в 2020-ом, никто из нас не предполагал чем он обернется для всех нас. Между тем, уже в январе из китайского города Ухань стали поступать сначала короткие известия, а вскоре и многочисленные видеорепортажи о грозной инфекции, разрастающейся с угрожающей быстротой. В обиход вошли новые слова и выражения: «коронавирус», «Covid-19», пандемия, «карантин», «масочный режим», «социальная дистанция», «на вынос», «вакцинация», «дистанционка», «65+» и пр. Вирус начал уносить сначала десятки, а потом сотни и тысячи жизней. К весне из-за глобального перемещения миллионов людей инфекция приняла планетарные масштабы, и в момент, когда пишутся эти строки, число умерших в мире приближается к двум миллионам, а в России к 50 000. До Ростова и, следовательно, нашего университета дыхание болезни докатилось к концу марта. Еще в начале весны к нам приезжали ученые (академик В.Н. Чарушин, профессор А. Филаровский), в аудиториях и лабораториях кипела привычная жизнь. Однако 1 апреля в городе был введен строгий карантин, а ЮФУ перешел на дистанционные занятия. Несмотря на то, что на кафедре не оказалось достаточно современных компьютеров, способных эффективно работать с сервисами “Teams” и “Zoom”, преподаватели и студенты приспособились к новым реалиям. Впервые за всю историю факультета экзамены и защиты дипломных работ проводились дистанционно. Привычная жизнь была полностью нарушена. Особенно тяжело переносилось отсутствие общения с коллегами и студентами. Например, автору этих строк после 1 апреля удалось посетить кафедру лишь в конце августа, и это был почти праздник. Летом эпидемия, как и ожидалось, отступила, карантин был снят и, казалось, уже не вернется. Но специалисты предостерегали, что с наступлением холодов придет и вторая волна «ковида». И с октября она действительно пришла, причем в более суровом виде. Если до осени на факультете и среди знакомых не было заболевших, то уже к декабрю только на нашей кафедре переболело 4 человека и у большинства болели знакомые и родственники. Возобновилось дистанционное чтение лекций, проведение семинаров. Немало переболело и студентов, что особенно сказалось на проведении практикумов. Но, к счастью, запланированные на семестр синтезы были выполнены в полном объеме.

В сложившейся ситуации особенно беспокоил вопрос о выполнении научных грантов, что требовало посещения лабораторий и проведения синтезов, измерения спектров и т.п. Проблем добавлял и неработающий факультетский ЯМР спектрометр. Благодаря некоторым послаблениям со стороны администрации ЮФУ и имевшемуся заделу кафедра преодолела эти трудности. За год в рейтинговых журналах было опубликовано 6 хороших статей (в 2019 году было 7), еще одна статья принята к печати. Аспирант Семен Цыбулин (рук. А.Ф. Пожарский) получил в 2020 г. грант РФФИ, руководители трех других проектов РФФИ смогли отчитаться за выполненную работу и опубликовать статьи. Бывшая аспирантка кафедры Е.А. Шмойлова (рук. А.Ф. Пожарский и О.В. Дябло) защитила в конце октября в Астрахани кандидатскую диссертацию (с задержкой на 4 года из-за рождения ребенка и карантина в течение этого года). Еще одно огорчительное последствие эпидемии – отмена научных конференций в масштабах страны и мира. Несмотря на все трудности, кафедра закупила необходимые для научной и, отчасти, учебной работы химические реактивы, растворители и адсорбенты. За счет средств факультета была куплена химическая посуда. В конце концов, заработал и ЯМР спектрометр благодаря усилиям сотрудников кафедры химии природных и высокомолекулярных соединений.



В канун 2021 года от имени заведующей кафедрой Анны Васильевны Гулевской и от себя лично благодарю всех сотрудников кафедры за проявленные в 2020 году выдержку, оптимизм и, конечно, за добросовестную работу в особо трудных условиях. Поздравляем преподавателей, инженеров, лаборантов и аспирантов кафедры, а также специализирующихся на ней студентов с **Новым годом!** Желаем каждому здоровья, успехов в творческой работе и семейного благополучия! Выражаем надежду, что эпидемические трудности вскоре начнут постепенно отступать.

Заслуженный деятель науки РФ, профессор А.Ф. Пожарский



Ядерные реакции и радиоактивность внутри нас

Химию можно рассматривать как относительно небольшой раздел физики, в центре которого стоят химические реакции, заключающиеся в образовании или распаде молекул. При этом участвующие в химических реакциях атомы не изменяются. Изменение атомов, фактически их ядер, – предмет исследования ядерной физики. Связанные с этим ядерные процессы сопряжены с поглощением или выделением огромной энергии. Они протекают в недрах звезд, при их взрывах, образовании и столкновениях так называемых нерелятивистских объектов типа нейтронных звезд и черных дыр. **Подавляющее большинство из нас полагает, что ядерные реакции невозможны в живых тканях, т.е. внутри нас. Между тем, это не так.** Дело в том, что при образовании химических элементов получаются не только устойчивые, но и неустойчивые ядра, различающиеся числом нейтронов. Неустойчивые со временем превращаются в устойчивые ядра других элементов, выделяя энергию, которая называется радиоактивностью. Возьмем, например, калий. Это седьмой по распространенности в земной коре элемент, без которого не может обходиться ни один живой организм. Взрослому человеку требуется в день до 5 г калия. Но калий существует в природе в виде трех изотопов: двух устойчивых ^{39}K (его 93.258 %) и ^{41}K (6.73%) и одного неустойчивого ^{40}K (0.0117 %). Организм поглощает все три. И хотя период полураспада изотопа ^{40}K кажется огромным (1.25 млрд. лет), ежесекундно внутри нас происходит около 4000 радиоактивных распадов, в результате которых образуются ядра кальция и аргона (в результате двух различных механизмов распада). Вопрос о том, как нейтрализуется в организме выделяющаяся при этом огромная энергия, заслуживает отдельного обсуждения. Между прочим, внутри нас существует еще один радиоактивный изотоп - это углерод ^{14}C . Однако его вклад в нашу внутреннюю радиоактивность не превышает 15–20%.

Нобелевская премия по химии – 2020

Нобелевская премия по химии – 2020 присуждена американке Дженнифер Дудне и французенке Эммануэль Шарпантье “за исследование метода редактирования генома”. Лауреаты сыграли важнейшую роль в изучении CRISPR – природной системы приобретенного иммунитета у микроорганизмов. С ее помощью микроорганизмы могут находить и избавляться от попавшей в их клетки вирусной РНК и ДНК. Исследуя эту систему, ученые разобрались, из чего она состоит и как работает. Д. Дудна и Э. Шарпантье смогли создать ее искусственный аналог. Кажется, что в этом мало химии. Однако следует признать, что биология – это и есть сложная химия.



Дженнифер Дудна (Jennifer Doudna) (справа)
Эммануэль Шарпантье (Emmanuelle Charpentier) (слева)

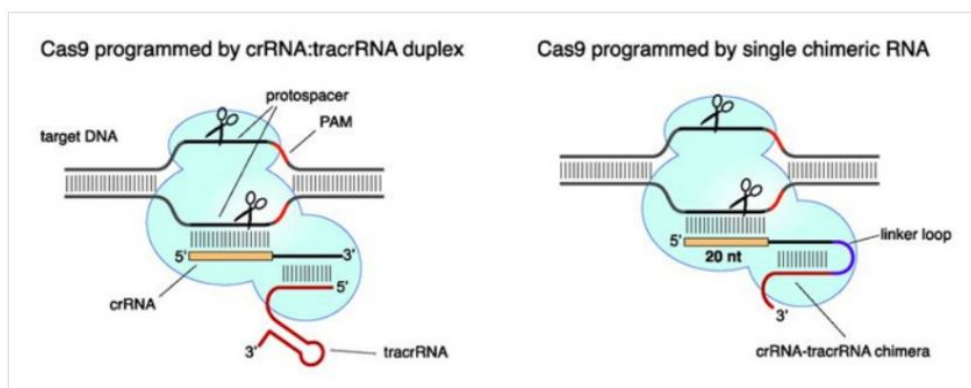
CRISPR-система представляет собой серию палиндромов, между которыми заключаются короткие отрезки вирусной ДНК (спейсеры). Палиндром – последовательность ДНК, состоящая из смежных инвертированных повторов, одинаково считывающихся в левом направлении одной цепи и в правом направлении другой цепи. Например, первая цепь: 5'-GAATTC-3', комплементарная цепь: 3'-CTTAAG-5'. В эту систему обязательно входят еще и *Cas*-гены (*Cas* от CRISPR-associated). Вся система призвана опознать чужеродную (вирусную) нуклеотидную последовательность и закрепиться на ней. После этого в ход идут нуклеазные ножницы (эндонуклеазы, входящие в *Cas*, или другие средства, например РНКазы), которые разрезают вирусную ДНК. Враг, таким образом, обезврежен. Но этого мало: у бактерии, пережившей вирусную атаку, в начало кассеты CRISPR достраиваются новые палиндромные отрезки с вирусными спейсерами. Теперь кусочек ДНК побежденного врага вставлен в бактериальный геном и будет передан потомкам бактерии. Именно так у бактерий и архей организован приобретенный иммунитет. Он постоянно обновляется по мере встреч бактериальной клетки с вирусными инфекциями.

Особенностью премии 2020 года стал рекордно короткий временной интервал от первых публикаций лауреатов, посвященных системе редактирования генома, до собственно самого события. В 2005 году ученые из двух научных групп из Франции и Испании, среди которых были и русские исследователи А. Болотин и А. Сорокин, обратили внимание, что в составе CRISPR встречаются кусочки геномов из эволюционно удаленных организмов – бактериальных вирусов или бактериофагов. Это наблюдение заинтриговало исследователей: зачем бактериальный геном цепляет и сохраняет чужеродную ДНК? В 2006 году в работе К. Макаровой, С. Шабалиной, Н. Гришина, Ю. Вольфа и Е. Кунина, проводивших исследования в Национальном институте здоровья в США, было впервые высказано предположение, что CRISPR вместе с идущими с ними бок о бок в геноме генами ферментов составляют древнюю систему генетического иммунитета бактерий, призванную ограничить инфицирование бактериофагами. Но важно было не только выдвинуть дельную гипотезу, но и доказать реальность явления и определить его “колесики и шестеренки”. Лишь в этом случае появляется возможность целенаправленных содержательных исследований. И они не замедлили последовать. Важный вклад в экспериментальное подтверждение гипотезы внесли микробиологи из американской пищевой компании Danisco Inc. под руководством Родольфа Баррангоу, которые подтвердили, что спейсеры CRISPR определяют иммунитет бактериальных штаммов после перенесенной инфекции.

Вскоре было открыто дополнительное условие для распознавания целевой вирусной последовательности: нужно, чтобы перед ней стоял особый набор нуклеотидов. Он получил наименование PAM (protospacer adjacent motif, то есть набор нуклеотидов, лежащий перед протоспейсером). А еще раскрыта функция *Cas9*: это эндонуклеаза,

которая разрезает ДНК, отступив ровно на 3 нуклеотида после протоспейсера. Потом появились сообщения о еще одном требовании к системе распознавания CRISPR таргетной вирусной последовательности – так называемой tracrRNA (последовательность из 25 нуклеотидов, комплементарная палиндромному отрезку и расположенная на противоположной от CRISPR нити ДНК. Потому она и получила приставку *транс* в наименовании). Когда с CRISPR-последовательности считывается РНК, то получается длинная незрелая пре-мРНК из 511 нуклеотидов. Ее нужно сначала нарезать на “правильные” кусочки палиндром-спейсер – так называемые crRNA. Тут и включается tracrRNA, присоединяясь к палиндрому и создавая короткие двойные нити. В этом виде ее могут узнать участники CRISPR-системы (*Cas9*, *Csn1*, РНКаза III).

В этот водоворот научных событий были вовлечены и нынешние лауреаты, опубликовавшие свою первую совместную статью в журнале Science в 2012 году. В анонсе Нобелевского комитета сказано, что Дудна и Шарпантье отмечены за “открытие одного из лучших инструментов генной инженерии: генетических ножниц CRISPR-*Cas9*, используя которые ученые могут редактировать ДНК животных, растений и микроорганизмов с очень высокой точностью”. Дудна и Шарпантье не просто открыли тончайшие грани этих ножниц, но и создали их искусственный аналог (см. рисунок ниже). Работая с бактерией *Streptococcus pyogenes*, они разбирали, как работает белок *Cas9* (DOI: 10.1126/science.1225829). Что необходимо для того, чтобы он разрезал двойную нить ДНК в нужном месте? Сама по себе crRNA, как было показано в опытах, не может посадить белок *Cas9* в нужное место и заставить его работать. А вот если к раствору добавить комплементарный кусочек повтора tracrRNA, то *Cas9* вступает в игру – садится на двойную ДНК (в замкнутой плазмиде или линейной ДНК-последовательности) и разрезает ее. В тех же экспериментах было показано, что если спейсер не будет комплементарен своему целевому участку, то система тоже не сработает. Еще раньше было показано, что tracrRNA заставляет фермент РНКазу III нарезать исходную длинную цепочку РНК из повторов и спейсеров на отдельные фрагменты «повтор + спейсер», без tracrRNA данный фермент не работает. Но теперь выяснилось, что без tracrRNA фермент *Cas9* тоже не работает. Таким образом, кусочек tracrRNA выполняет две важные функции в работе системы CRISPR.



Слева: натуральная система «crRNA+tracrRNA». На целевой (таргетной) ДНК находится протоспейсер, комплементарный спейсерному участку CRISPR (обозначен желтым цветом); на 3'-конце повтора прикреплена комплементарная tracrRNA (красная). Голубым показан прикрепившаяся ко всей этой системе эндонуклеаза *Cas9*, состоящая из трех субъединиц, две из которых разрезают протоспейсер с двух концов. Они это делают в специальных сайтах, а именно рядом со специальным мотивом из трех нуклеотидов PAM (обозначен темно-розовым цветом). Справа: искусственно созданная Д. Дудной и Э. Шарпантье химерная система CRISPR. Она представляет собой одну нить РНК, а не две: последовательность, комплементарная повтору (красная), представлена не отдельной tracrRNA, а завернутым через петлю фрагментом.

По материалам:

https://elementy.ru/novosti_nauki/433713/Nobelevskaya_premiya_po_khimii_2020

https://elementy.ru/novosti_nauki/433059/Podvedeny_itogi_pervogo_desyatiletija_izucheniya_CRISPR

<https://trv-science.ru/2020/10/gennyx-del-mastericy/>