



**Анатолий Зинченко,**  
заведующий отраслевой  
лабораторией молекулярных  
био- и нанотехнологий  
Института микробиологии НАН  
Беларуси, член-корреспондент



**Александр Шепшелев,**  
директор Института  
микробиологии  
НАН Беларуси,  
кандидат технических  
наук, доцент



**Елена Болотник,**  
заместитель директора по  
научной и инновационной  
работе Института  
микробиологии НАН Беларуси,  
кандидат биологических наук

# Молекулярные био- и нанотехнологии *на службе человека*

Новый проект журнала «Наука и инновации» – «Точка конвергенции» – ориентирован на системное освещение деятельности отраслевых лабораторий, созданных в наукоемких и высокотехнологичных секторах экономики для ускоренного выхода инновационной продукции на рынок. По состоянию на 01.07.2025 г. в Республике Беларусь зарегистрировано 96 отраслевых лабораторий, из которых в системе Министерства образования – 33, НАН Беларуси – 23, Минпрома – 20, Минздрава – 6, Минсельхозпрода – 4, Минстройархитектуры – 3, Минсвязи и Минтранса по 2, Минприроды, Госстандарта и концерна «Беллегпром» по 1. Такая институциональная представленность подчеркивает масштабность работ и многогранный характер исследований, где отраслевые лаборатории выступают связующим звеном между фундаментальной и прикладной наукой и реальным сектором экономики и ориентированы на практический результат.

В число приоритетных направлений научной и научно-технической деятельности Института микробиологии НАН Беларуси входят селекция и генно-инженерное конструирование штаммов – продуцентов практически ценных соединений, создание микробных биотехнологий для медицины, промышленности и сельского хозяйства. Практическое внедрение разработок способствует решению проблем импортозамещения и вносит весомый вклад в инновационное развитие страны, обеспечение технологического суверенитета. Для трансфера достижений в области молекулярной биологии в практику и повышения эффективности работ в 2023 г. в институте образована отраслевая лаборатория молекулярных био- и нанотехнологий. Здесь ученые изучают возможности замены химических и физических процессов при получении разнообразных полезных продуктов на биологические, а именно:

- с использованием генно-инженерной техники конструируют рекомбинантные микроорганизмы – суперпродуценты белковых продуктов (ферментов и антигенов) различного назначения;
- разрабатывают ферментативные технологии фармацевтически перспективных нуклеозидов и нуклеотидов, иммуностимуляторов различной химической природы, кандидатных мРНК-вакцин.

Еще в 1989 г. тогдашняя лаборатория компонентов нуклеиновых кислот впервые в мире приступила к системному изучению субстратной специфичности ферментов нуклеинового обмена микроорганизмов в отношении широкого спектра природных и модифицированных соединений нуклеиновой природы – нуклеозидов, нуклеотидов и азотистых оснований.

На основе установленных закономерностей трансформации нуклеиновых кислот и их компонентов ферментами микроорганизмов разработана схема комплексной химико-ферментативной переработки ДНК и РНК в ряд ценных биологически активных соединений (рис. 1).

## Наиболее важные результаты работы

Направления исследований лаборатории связаны с нарастающей потребностью в получении новых и совершенствовании существующих технологий синтеза противоопухолевых и противовирусных модифицированных нуклеозидов, соединение элементов которых химическими способами затруднено или невозможно. Так, совместно с сотрудниками лаборатории химии нуклеотидов и полинуклеотидов Института биоорганической химии НАН Беларуси разработан оригинальный химико-ферментативный подход к выработке модифицированных нуклеозидов и нуклеотидов из упомянутой категории. В 2004 г. цикл работ по химико-энзиматической модификации компонентов нуклеиновых кислот и созданию химико-энзиматических технологий получения противовирусных и противоопухолевых лекарственных средств, выполненный сотрудниками Института микробиологии НАН Беларуси совместно с ИБОХ НАН Беларуси и УП «Белмедпрепараты», удостоен Государственной премии Республики Беларусь в области науки и техники.

Со временем эта работа привела к организации на базе НПП «ХимФармСинтез» ИБОХ НАН Беларуси химико-ферментативного производства отечественных лекарственных препаратов «Лейкладин» и «Флударабел» для лечения лейкозов и препарата «Лейковир» для терапии рассеянного склероза.

Выполнена работа, вошедшая в топ-10 результатов деятельности ученых НАН Беларуси в области фундаментальных и прикладных исследований за 2020 г., по созданию рекомбинантных штаммов бактерий – продуцентов человеческого белка аннексина А5 в единстве с аденозин-деградирующими ферментами. Белок аннексин А5 обладает повышенным сродством к фосфатидилсерину (фосфолипиду, выстилающему поверхность раковых клеток), что делает его перспективным для использования в качестве таргетного транспортера.

Как известно, большинство раковых опухолей характеризуются повышенной выработкой аденозина, который угнетает противоопухолевый иммунитет человека. Пурионуклеозидфосфорилаза (ПНФаза) катализирует реакцию расщепления аденозина



Рис. 1. Схема комплексной трансформации нуклеиновых кислот ферментами микроорганизмов

до аденина, при этом микроокружение опухоли освобождается от аденозиновой блокады, что приводит к активизации противоопухолевого иммунитета самого онкологического больного. В результате адресной доставки белок связывается с молекулярной мишенью – фосфатидилсерином раковых клеток, не затрагивая здоровые клетки хозяина. Соединение аннексина А5 и ПНФазы в единой молекуле (рис. 2) претендует на звание действующего вещества нового класса противоопухолевых препаратов, стимулирующих собственный иммунитет пациента. Потенциально оно может использоваться в пролекарственной терапии онкологических заболеваний. Для получения человеческого аннексина А5, слитого с пуриннуклеозидфосфорилазой *E. coli*, с использованием методов генной инженерии создан особый рекомбинантный штамм-продуцент.

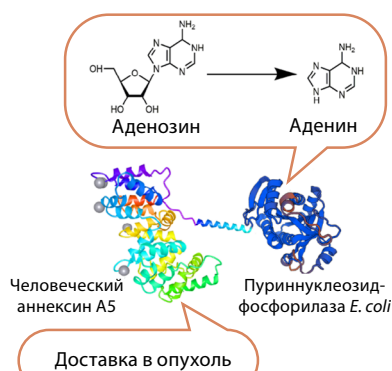


Рис. 2. Предполагаемый химизм действия противоопухолевого химерного белка «Аннексин-ПНФаза»

В экспериментах, проведенных совместно с сотрудниками Института радиобиологии НАН Беларуси, показано, что при введении мышам – опухоленосителям асцитной карциномы Эрлиха препарата «Аннексин-ПНФаза» показатель торможения солидной опухоли составил около 50%.

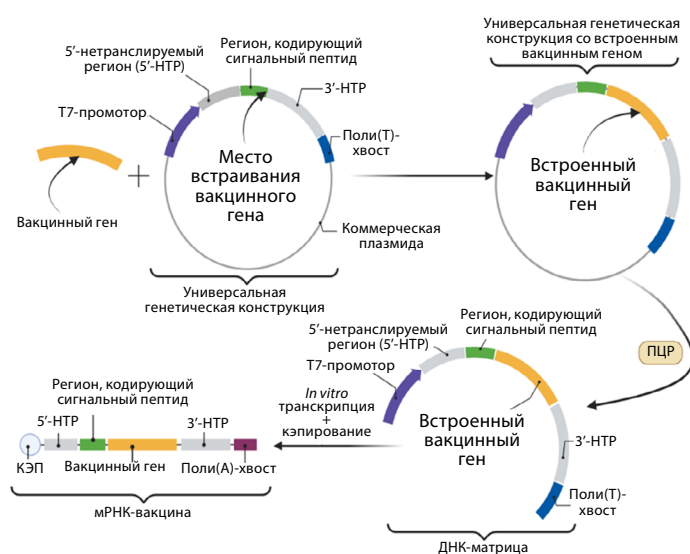


Рис. 3. Схема получения экспериментального образца кандидатной мРНК-вакцины против коронавируса SARS-CoV-2

В рамках подпрограммы «Микробные биотехнологии-2» ГПНИ «Биотехнологии-2» на 2021–2025 гг. разработан наноразмерный прототип мРНК-вакцины против омикронного штамма SARS-CoV-2. Для этого был сконструирован и запатентован рекомбинантный штамм бактерии *Escherichia coli* – носитель универсальной генетической конфигурации, кодирующий основные структурные элементы, необходимые для осуществления процесса трансляции мРНК в клетках человека и животных. Также создан штамм *E. coli* – носитель универсальной генетической конструкции со встроенным геном, кодирующим иммуногенный (RBD) участок S-белка штамма омикрон. С использованием этого ДНК-вектора в качестве матрицы *in vitro* был получен РНК-транскрипт, содержащий RBD-участок S-белка штамма и все структурно-функциональные составляющие, необходимые для трансляции мРНК в животных клетках (рис. 3).

Впервые полученная мРНК была присоединена к наночастицам природного полимера хитозана и продемонстрировано ее пролонгированное высвобождение из комплекса в окружающую среду.

Глобальное распространение ожирения и сахарного диабета в последние несколько десятков лет привело к повышенному интересу исследователей по всему миру и к разработке безопасных и низкокалорийных натуральных подсластителей с приятными вкусовыми свойствами. Среди таких продуктов значительное внимание привлекают белки со сладким вкусом. Сотрудниками лаборатории в рамках подпрограммы «Микробные биотехнологии» ГПНИ «Биотехнологии» на 2016–2020 гг. разработана и запатентована технология бесклеточного синтеза браззеина – чрезвычайно сладкого растительного белка – для использования в качестве сахарозаменителя нового поколения.

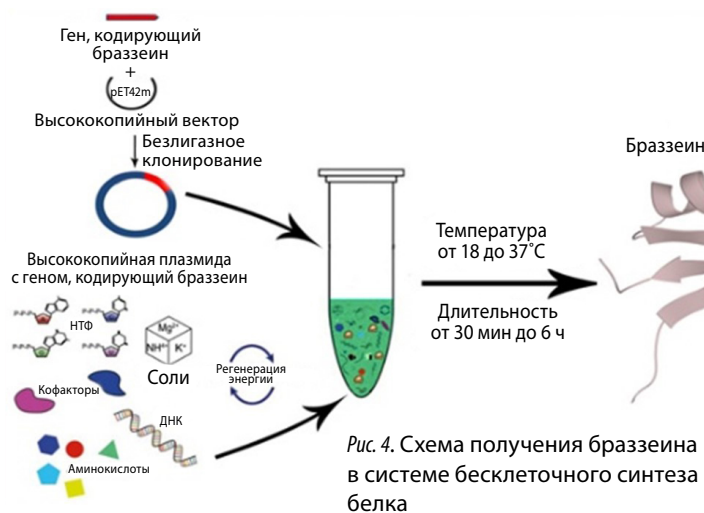
Белок браззеин состоит из 54 аминокислот, присутствует в плодах некоторых африканских деревьев и имеет длинную историю потребления в пищу приматами. В отличие от других подсластителей и сахарозаменителей, этот белок абсолютно безвреден, имеет практически нулевую калорийность и по своим вкусовым качествам максимально приближен к обычному свекловичному сахару, но слаще его в тысячи раз. В лаборатории впервые в мире браззеин получен инновационным способом – путем бесклеточного биосинтеза с использованием экспрессии мутантного гена браззеина (рис. 4). Согласно разработанной технологии, волуметрический выход целевого продукта за 7-часовой процесс достигает 2,0 мг/мл реакционной смеси, что значительно превышает такой показатель у процессов-аналогов.

Кроме сладкого вкуса, превышающего сладость обычной сахарозы в 20 тыс. раз, браззеин обладает антиоксидантной, противовоспалительной и антиаллергической активностями и поэтому может быть задействован не только в качестве сахарозаменителя нового поколения, но и для производства фармакологических средств.

Выполнена НИР по созданию высокоактивного генно-инженерного штамма для получения вакцин нового поколения с потенциально усиленной иммуногенностью, вошедшая в топ-10 результатов деятельности ученых НАН Беларуси в области фундаментальных и прикладных исследований за 2022 г.

В частности, с использованием генно-инженерной техники разработан штамм бактерий – суперпродуцент фермента диаденилатциклазы с активностью, превышающей таковую у известных аналогов. С помощью этого фермента синтезирован в 1 стадию труднодоступный усилитель вакцин последнего поколения – циклический динуклеотид цикло-диАМФ, обычно получаемый путем многостадийного химического синтеза.

Неожиданной особенностью созданного штамма оказалась его способность синтезировать каталитически активный фермент не в свободном виде, а в форме водонерастворимых так называемых телец включения. Такие тельца легко выделяются из клеточного лизата простым центрифугированием, но самое главное – такую, по сути дела, иммобилизованную форму фермента можно использовать многократно. В целом, это открывает возможность для кардинального усиления иммуногенности разрабатываемых интраназальных мРНК-вакцин против SARS-CoV-2 и других респираторных вирусов человека и животных.



## Актуальные проекты сегодняшнего дня

Лаборатория в рамках Программы отдельных проектов НАН Беларуси завершает двухлетнюю разработку опытно-промышленной технологии получения модифицированного нуклеозида – 6-тио-2'-дезоксигуанозина (6ТДГ).

По литературным данным, он обладает необычным механизмом противоопухолевого действия, не похожим на все известные, проявляемые модифицированными нуклеозидами. Этот нуклеозид-антиметаболит под видом обычного 2'-дезоксигуанозина способен включаться в так называемые теломерные (находящиеся на концах хромосом) участки только опухолевых клеток. Структура теломер при этом настолько изменяется, что это «вынуждает» клетку совершить генетически запрограммированное самоубийство – апоптоз.

Указанная особенность 6ТДГ прогнозирует возможность его использования в качестве уникального противоопухолевого лекарственного средства, обладающего исключительно высокой избирательностью по отношению к раковым клеткам и низкой токсичностью для нормальных тканей.

Следует отметить, что в 2016 г. сотрудники лаборатории впервые синтезировали новый нуклеозид из тимидина (dThd) и 6-тиогуанина (6ТГ) с помощью двух самостоятельно получаемых рекомбинантных ферментов – тимидинфосфорилазы (ТФазы) и пуриннуклеозидфосфорилазы (ПНФазы).

В рамках международного проекта, финансируемого БРФФИ, – «Ферментативное получение новых фосфолипидных производных противовирусных нуклеозидов и сравнительная оценка их биологической активности» – осуществляется поиск новых эффективных противовирусных соединений. В ходе выполнения этих исследований впервые с помощью ранее разработанного препарата бактериальной фосфолипазы D *Streptomyces netropsis* синтезированы и переданы на доклинические испытания турецким соисполнителям новые фосфолипидные производные известных противовирусных модифицированных нуклеозидов – ламивудина, телбивудина и энтекавира. Также с помощью бактериальной фосфолипазы D синтезирован новый липидный дигексаноилфосфатидильный аналог противоопухолевого нуклеозида 6ТДГ (рис. 5). Доклинические испытания, проведенные зарубежными партнерами

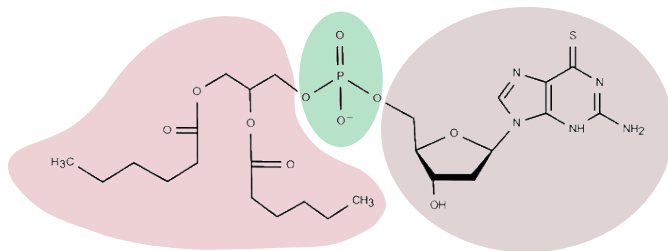


Рис. 5. Структура молекулы нового фосфатидильного аналога 6ТДГ

на линии клеток колоректального рака человека (HT29), позволили охарактеризовать новый аналог как многообещающее пролекарство с двойным эффектом, выражающимся, с одной стороны, в избирательном уничтожении раковых клеток, а с другой – в активации хозяйского противоракового иммунитета.

В рамках подпрограммы «Микробные биотехнологии-2» ГПНИ «Биотехнологии-2» на 2021–2025 гг. завершена работа по конструированию и изучению первого в Республике Беларусь штамма бактерий *Escherichia coli*, продуцирующего фосфолипазу A1 *Serratia marcescens* – фермента, имеющего перспективу применения в пищевой промышленности при ректификации растительных масел и производстве сыра.

Уже доказано, что ферментативная очистка (дегуммирование) растительных масел, проводимая с участием фосфолипаз, имеет ряд преимуществ в сравнении с традиционными процессами. Обработка сырого масла ферментами намного экологичнее, проводится в мягких условиях, требует гораздо меньшего объема воды и кислот, а также снижает количество отходов. Ферментативное дегуммирование также позволяет добиться более высокой степени очистки масла. Кроме того, ферменты могут использоваться повторно, что повышает выход продукта и снижает эксплуатационные затраты. Поэтому включение в процесс фосфолипаз в масличной промышленности представляется привлекательной альтернативой традиционной методике.

## Участие в решении глобальных проблем

Лаборатория определяет для себя ряд стратегических задач, направленных на решение глобальных проблем, включая борьбу с онкологическими и инфекционными заболеваниями, минимизацию загрязнения окружающей среды, преодоление дефицита белка, а также антибиотикостойкости патогенов.

С учетом имеющихся данных клинических испытаний и мирового опыта борьбы с онкологическими недугами наиболее эффективным на сегодняшний день представляется сочетание нескольких подходов (рис. 6):

- химиотерапия пациента с помощью тимо-модифицированного нуклеозида, обладающего потенциальной активностью против 85–90% видов онкологических заболеваний;
- введение специального химерного белка Аннексин-ПНФаза, «снимающего тормоз» с собственного противоопухолевого иммунитета больного;
- внутриопухолевая инъекция особой смеси вакцинных адъювантов, превращающих любую опухоль в вакцину против самой себя.

Для реализации указанных подходов сотрудниками лаборатории разработана и запатентована технология получения противоопухолевого нуклеозида 6ТДГ с уникально широким спектром действия; создан и запатентован штамм-продуцент особого нацеленного на опухоли человеческого химерного белка Аннексин-ПНФаза; высказана (Зинченко и др., 2018), но еще не проверена экспериментально идея о составе препарата для противоопухолевой *in situ*-вакцинации.

Также представляется целесообразным проверить высказанную в литературе идею превращения рака из пугающего всех смертельного недуга в обычное хроническое заболевание. Для этого необходимо подавить процесс образования метастазов – истинных виновников летальных исходов в подавляющем большинстве случаев. В научной литературе уже описаны (и в лаборатории их тоже могут получать) соединения, которые ингибируют т.н. стволовые клетки опухоли, ответственные за бессмертие и метастазирование раковых опухолей.

Для борьбы с загрязнением окружающей среды в лаборатории начато создание рекомбинантных

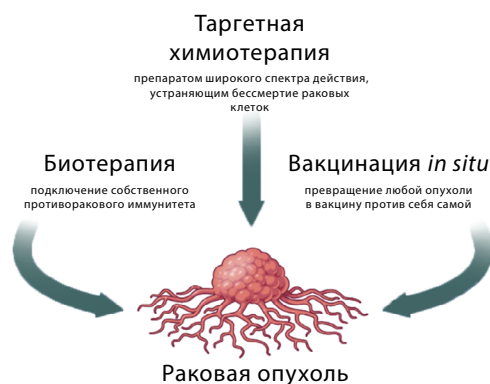


Рис. 6. Предлагаемые подходы к терапии рака

штаммов микроорганизмов, продуцирующих особый фермент – полиэтилентерефталат-гидролазу *Piscinibacter sakaiensis*. Этот фермент способен вызывать биodeградацию бутылочного и упаковочного пластика (полиэтилентерефталата), наиболее устойчивого к разложению в окружающей среде.

Решение проблемы дефицита белка может быть отчасти достигнуто с помощью применения рекомбинантных ферментов. Большое количество куриных перьев (которые на 80–85% состоят из полноценного по аминокислотному составу белка-кератина) сжигается, закапывается в землю или перерабатывается (частично) в слабо усвояемую животными перьевую муку. В лаборатории в рамках диссертационного исследования создан и запатентован бактериальный штамм, продуцирующий кератиназу, способную гидролизовать перо птицы в легко усвояемый белковый гидролизат кормового назначения. К сожалению, получаемый рекомбинантный фермент пока демонстрирует недостаточную эффективность при гидролизе пера. Необходим продуцент (и он начал разрабатываться) фермента-помощника, ослабляющего третичную структуру кератина за счет восстановления его многочисленных S-S-связей.

Для относительно быстрого создания вакцин против вновь появляющихся возбудителей инфекционных заболеваний целесообразно использовать вышеописанный штамм-продуцент универсальной генетической конструкции.

В качестве действенной защиты от респираторных вирусов рационально использовать индуктор интерферона. Как известно, система защиты организма позвоночных предусматривает синтез (в ответ на обнаружение патогенов в своем организме) особых белков-интерферонов, которые индуцируют множество различных механизмов защиты, приводящих в большинстве случаев к элиминации внедрившихся инфекционных патогенов. В этой связи представляется логичным вместо самого интерферона использовать его природный индуктор, в частности получаемый в лаборатории цикло-ди-АМФ. Введение его в организм человека или животного должно имитировать инфекционную атаку и приводить к быстрому включению эволюционно сформированной системы универсальной защиты от всех без исключения инфекционных патогенов, в том числе и еще не известных.

Бесконтрольное и порой избыточное применение антибиотиков в медицине, сельском хозяйстве и пищевой промышленности привело к возникновению глобальной проблемы – образованию патогенных микроорганизмов, проявляющих устойчи-

вость к антибиотикам (лекарственным препаратам), причем даже последнего поколения.

Из анализа литературы просматривается ряд еще относительно малоизученных подходов к решению этой проблемы, среди которых использование:

- бактериофагов;
- металлических (Cu, La, Ag, Zn и др.) или полимерных наночастиц;
- антимикробных пептидов;
- недавно обнаруженных хищных бактерий.

Все эти подходы основаны на механизмах антибактериального действия, отличных от тех, которые свойственны применяемым сегодня антибиотикам, что должно затруднить формирование соответствующей устойчивости.

Что касается нанобиотехнологического подхода, в отраслевой лаборатории молекулярных био- и нанотехнологий проводятся работы по получению и изучению наноматериалов, осуществлен синтез наночастиц меди, железа, лантана, цинка, MgAl-слоистых двойных гидроксидов, хитозана и других соединений.

## Перспективы развития лаборатории

Коллектив ученых постоянно работает над развитием человеческого потенциала и актуализацией направлений научных исследований (например, во время пандемии COVID-19 были начаты исследования по созданию прототипов современных ДНК- и РНК-вакцин, а также их усилителей – адъювантов). Представляется, что и в будущем лаборатория продолжит следовать этим традициям и вносить весомый вклад в развитие отечественной науки и решение важных социально-экономических проблем.

Высококвалифицированные кадры – основа успешной научной деятельности. Поэтому привлечение талантливых и «горящих» наукой молодых ученых, сохранение и продвижение вперед сформировавшейся научной школы – безусловно, важнейшая составляющая инновационного прогресса.

Поскольку биологические исследования в современном мире во многом зависят от наличия высокотехнологичного оборудования, необходимо дальнейшее укрепление материально-технической базы лаборатории и Института микробиологии НАН Беларуси в целом. Конечно, очень важна поддержка государства – как на этапе финансирования научно-исследовательских проектов, так и для последующего внедрения полученных результатов в реальный сектор экономики. ■