

НА ПЕРЕДНЕМ КРАЕ НАУКИ

Биосенсоры работают на диагностику

Как шуточно заметил однажды уважаемый человек, выступая в дискуссии на конференции — процесс формирования личности учёного, как и оценка его вклада в науку, требует фундаментальных подходов.

Варианты могут быть разные. Иной раз процесс идет в рамках стандартного формата, последовательного и предсказуемого, без особых отклонений от курса. Случается, на ход событий влияют «условия внешней среды», неожиданные обстоятельства и крутые повороты, приключившиеся на тропах научного маршрута. Но при всём при том главное, чтобы научный багаж с годами становился всё весомее и значительнее.



Доктор химических наук **Леонид Анатольевич Шундрин** работает в лаборатории физических методов исследования Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН. Коренной новосибирец (согласно поговорке — где родился, там и пригодился). Высшее образование получил в Москве, в Институте тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова (закончил вуз в 1989 году).

— Перед моими глазами прошел, можно сказать, весь процесс перестройки и связанных с ним бурных событий. Я даже был участником некоторых из них. Вот пойду на пенсию, засяду за мемуары. С позиций сегодняшнего дня многое видится совсем не так, как во времена минувшие и суматошные, как бы переосмысливаешь поступки, действия — свои и окружающих.

Окончив институт, там же поступил в аспирантуру, на кафедру физической химии. Опекал меня Евгений Александрович Поленов, ныне профессор, ученик знаменитого академика Якова Кивовича Сыркина, специалиста в области физической и квантовой химии. Тот был философом, позволяющим себе смелые и неожиданные суждения. Про работу Э. Канта «Критика способности суждения» он, например, сказал, что она слабовата.

Первым руководителем моим был Александр Анатольевич Овчинников, брат вице-президента АН СССР Юрия Анатольевича Овчинникова.

Специализировался я по органическим анион-радикалам, частицам, которые имеют органическую основу, а на своей внешней орбитали — неспаренный электрон, потому и активны в методе электронного парамагнитного резонанса. Метод осваивал также в секторе радиочастотной спектроскопии Научно-исследовательского физико-химического института им. Л.Я. Карпова, где подрабатывал в последний год студенчества.

— И в те годы вы заложили прочный фундамент под все дальнейшие работы?

— Пожалуй, именно тогда. Анион-радикалы — частицы специфические, чтобы их исследовать, нужна совокупность методов — электрохимия, ЭПР-спектроскопия, сложные расчёты. Потихонечку набирался знаний и опыта. В 93-м защитил диссертацию в Институте химической физики им. Н.Н. Семёнова Академии наук — теперь, после разделения, часть его носит имя Н.М. Эммануэля и называется Институт биохимической физики. Кстати, академик Дмитрий Георгиевич Кнорре был коллегой Николая Марковича.

— Вы начинали свою научную карьеру в сложные для науки времена. Не возникало желания резко изменить курс?

— Наверное, по молодости ещё не осознаешь всей глубины развернувшейся про-

пасти. Но я помню до сих пор слова, с болью произнесенные как-то Мариной Яковлевной Зельдович, дочерью академика Зельдовича. А суть их в том, что науку государство должно поддерживать всегда, а не только в критические моменты, когда решается судьба страны.

— Леонид Анатольевич, судя по всему, всё складывалось у вас хорошо. Почему сменили место работы?

— Мы с женой Инной, которая закончила тот же институт, жили в комнате в общежитии. У нас родилась дочка, Инна готовилась защищать диссертацию. Вот и решили к родителям моим перебраться. Как только она защитилась, направились в Новосибирск.

В Новосибирском институте органической химии состоялась беседа с заместителем директора В.Ф. Стариченко. Он слегка удивился, что я выбрал их институт, но поскольку ЭПР-щиков в НИОХ не было, он меня сразу поставил меня на синтез. Для меня это была сравнительно новая область. Речь шла о коммерческом проекте — синтезе определённого катализатора. Работали вместе с доктором наук Эльвирой Эдуардовной Шульц.

— Решили для себя, что это занятие — ваше? Мысли поискать ещё где-нибудь не возникало?

— Скажу честно, в те времена, когда молодёжь и люди постарше стаями устремлялись за пределы страны за лучшей долей, мысли, может быть, и появлялись. Но мудрый ход сделал Валентин Афанасьевич Коптюг — многим молодым сотрудникам выделили квартиры на ул. Русской, 11. Жильё — это база! И почти все те ребята, что обрели жилплощадь, до сих пор работают в институте.

Потом меня пригласили в проект Международного научно-технического центра. Специализация совершенно другая — молекулярная биология, молекулярная генетика. Перешел в Институт биоорганической химии, но работал и в Кольцово, на «Векторе». Занимался микрочиповым анализом. И здесь впервые познакомился с тем, что называется биосенсорами.

— Чем и сегодня занимаетесь?

— Тогда занимался несколько другими биосенсорами. Их основой был микрочиповый анализ, метод, который относительно недавно был создан, и не без участия российских учёных. На Западе он очень развит. Область биосенсорика, флуоресцентных, электрохимических сенсоров привлекает внимание многих специалистов. Моя группа данными проблемами тоже активно занимается.

Проект закончился, я вернулся в НИОХ. Некоторый опыт в молекулярной биологии у меня уже был, в том числе приобретенный при сотрудничестве с американцами в области противодействия биотерроризму. Так что в активе появились работы соответствующей тематики.

А в группе ЭПР и электрохимии лаборатории физических методов исследования НИОХ в свое время были выполнены фундаментальные исследования, которые можно было применить для последующей разработки специальных низкомолекулярных меток для детекции ДНК, адсорбированной или ковалентно иммобилизованной на микроэлектродах. Это, собственно, и есть выход на биосенсорные геномные технологии или на геносенсоры. В группе ЭПР и электрохимии я курирую электрохимическую тематику и отчасти ЭПР-томографию.

Недавно закончили стартаповский проект по разработке новых электрохимически активных меток. Подготовили очередную. Хорошо бы его поддержали! Нам очень нужны по крайней мере 3 млн рублей, чтобы закупить аппаратуру, которая чувствует токи в нано- и пикоамперном диапазоне. Это означает, что даже мономолекулярный слой из гибридных олигонуклеотидов, содержащих электрохимическую метку, она воспринимает с удовлетворительным разрешением по току. Значит, мы можем проанализировать строение генома, сделать генотипирование.

— И что в результате?

— Тут вступают в силу медицинские аспекты. Сотрудничая с Институтом клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, убеждаюсь в том, что электрохимические геносенсорные технологии и флуоресцентный микрочиповый анализ взаимно дополняют друг друга. Каждый метод решает

свои задачи. Директор института академик В.И. Коненков нас очень поддерживает. Развитие методов даст серьёзный вклад и в диагностику, и в предиктивную медицину.

— Речь можно вести о вкладе фундаментальной науки в практическую медицину?

— Не стоит забывать, что в любом прикладном выходе всегда много фундаментальной науки. В НИОХ классные специалисты, очень большой опыт фундаментальных исследований по веществам, способным к обратимому переносу электронов, в том числе и в водных средах.

Наша главная задача — найти такие вещества, подходящие для разработки репортерных групп, исследовать их электрохимические свойства, химически модифицировать, ввести в олигонуклеотиды и показать, что они работают в качестве редокс-меток для технологий электрохимической геносенсорики.

— Процесс довольно сложный?

— Не сказал бы, что слишком сложный. Электрохимических биосенсоров очень много, для разных видов задач. В нашем случае принцип работы следующий. Имеется в наличии ДНК, последовательность которой неизвестна. Есть олигонуклеотидный зонд с известной последовательностью нуклеотидов — он иммобилизуется на поверхности электрода.

Например, у человека, зараженного вирусом, выделили ДНК, амплифицировали участок гена вируса (патогена). Цель — в ДНК патогена ввести электрохимические метки и провести гибридизацию на микрочипе с массивом электродов, на поверхности каждого из которых имеется уникальный олигонуклеотидный зонд. А в результате электрохимического «сканирования» такого микрочипа будет ясен, например, генотип вируса, а стало быть, понятна и степень опасности, и вариант терапии. Таковых примеров масса, много и методик генотипирования, технологических вариантов решения проблемы. Один из них — с использованием олигонуклеотидной «шпильки», устроенной так, что электрохимическая метка в составе «шпильки» оказывается в пределах двойного электрического слоя в отсутствии гибридизации. Когда после гибридизации редокс-метка уходит из этого слоя, исследователь видит отклик микрочипа, «обратный» по сравнению с предыдущим технологическим вариантом.

Технология развивается, задача — создать экспресс-диагностику. Тогда генотипирование займет значительно меньше времени. И, соответственно, более эффективным будет лечение.

Скажем, есть вирус гепатита С — он разный, нескольких видов, отличающихся некоторой вариативностью в геноме. И в каждом варианте требуется своя методика лечения, свой препарат.

— И всё же — ваша изначальная задача?

— Найти подходящие по своим свойствам «базовые» структуры, синтезировать на их основе новые электрохимические метки и проверить работоспособность в реальных биосенсорных экспериментах.

Недавно провели исследования по разработке очередной метки. Тут ведь вот ещё в чем вопрос — метки, скажем так, есть «хорошие» и «плохие». «Хорошие» отличаются от «плохих», прежде всего, своим редокс-потенциалом. Он не должен быть высоким по абсолютному значению, и в то же время метка должна обладать обратимостью по отношению к электронному переносу в водных средах. Когда мы исследуем «базовые» структуры электрохимическими методами, основные качества будущей редокс-метки уже можем прогнозировать.

Не столь давно опубликовали работу по соединениям, которые хотим использовать как будущие метки. Когда изучили классические циклические вольтамперограммы, увидели, что одно соединение обратимо восстанавливается в воде. Причём обладает очень низким потенциалом электрохимического восстановления, значение которого попадает в область тех потенциалов, при которых необратимого разрушения ДНК не происходит, что и позволяет использовать её в геносенсорах.

Что такое ДНК? Это же полианион. Если она гибридизирована на электроде с олигонуклеотидным зондом и мы приложили большое напряжение, ДНК либо «отплавится» сама по себе и уйдет от электрода, либо разрушится. Электрохимическая детекция

гибридизации возможна, когда электрон перескакивает с метки на электрод и обратно, а ДНК не «расплавляется», сохраняя двойную спираль. Вот здесь проблема. Но совершенных, стабильных меток не так много на самом деле.

Как уже говорил, получение метки — междисциплинарное действие. Вычисляем, создаем, потом «садим» на нее электрон, получается анион-радикал, который можно распознать, привлекая ЭПР-спектроскопию.

Когда необходимые доказательства получены, изобретаем синтетический метод, условия, чтобы ввести в молекулу функциональную группу, причём в такое положение, чтобы система пи-электронов оказалась достаточно консервативной, и будущая метка при переносе электронов не теряла способностей, за которые, собственно, и ценится.

— Одна из ваших задач — упрочить метку?

— Сама по себе она должна быть устойчива изначально. Всё дело в том, чтобы введенное положение, а затем с его помощью ковалентно прикрепить к олигонуклеотиду.

Биосенсоры сегодня — объект, популярный у исследователей. Есть заметный выход на коммерцию. Пример — биосенсоры, которые дискриминируют точечные полиморфизмы.

В органической электрохимии мы фактически монополисты среди институтов Академгородка. Интерес к этой области значительный, объектов исследования много. Практически неизведанное поле — электрохимия бирадикалов. В Томографическом центре их синтезом занимается член-корреспондент РАН В.И. Овчаренко и его ученик Е. Третьяков. Виктору Ивановичу я докладывал свою докторскую диссертацию, которую защитил в прошлом году.

— А чем же эти объекты интересны?

— Оказалось, если удалить у бирадикала определенное строение один электрон, его окисленная форма очень устойчива, он обратимо окисляется, идеально обратимо. И потенциал не зависит от скорости его развёртки.

Исследование чисто фундаментальное. Мы получили спектры и анион-радикала и катион-радикала. Интерпретировали спиновые параметры, данные электронной структуры. Доктор физико-математических наук Нина Павловна Грицан сделала расчёты.

Группа наша вполне самостоятельная, самодостаточная. Будем развиваться с активным сотрудничеством с коллегами — с лабораторией Игоря Алексеевича Григорьева — по ЭПР-томографии и фармакокинетике спин-меченых лекарств, с докторами наук Андреем Викторовичем Зибаревым и Виталием Давидовичем Штейнгарцем.

— Какие проблемы сегодня вас особенно волнуют?

— Проблемы всё те же — не устраивает система финансирования науки и получения грантов. РФФИ лишь недавно стал публиковать рецензии на проекты. Рецензии нужны обязательно — они дают истинное представление о ценности работы, перспективах, да и о политике государства в области науки.

Мы могли бы гораздо больше сделать для разных областей, главное — для медицины. Но очень нужна более совершенная аппаратура — и для биосенсоров, и для постановки в нашем Институте органической химии метода сканирующей электрохимической микроскопии. Тогда бы имели выход на цитологию, поскольку разная агрегация некоторых клеток, помещённых между двумя электродами под разностью потенциалов — в норме и при патологиях, была бы очевидной.

— И всё-таки нельзя не согласиться с тем, что в науке работают настоящие энтузиасты, а это способствует упрочению ее позиций!

— На одном энтузиазме далеко не уедешь. Хотя, действительно, людей, по-настоящему преданных науке, немало. И среди молодёжи — тоже, что особенно радует. В науку идут те, кому это интересно. Кто хочет много денег заработать, ищет другое место. Кстати, так, наверное, не в одной нашей стране. Денис Комаров, который стажировался в США, говорит — там так же.

— По натуре вы оптимист или пессимист?

— Я реалист, любящий свою работу. Планирую на нас большие. Будем реализовывать.

Л. Юдина, «НВС»
Фото В. Новикова