

Г.Г.Онищенко¹, В.В.Кутырев², Г.Н.Одинок², В.А.Сафронов²**СИНТЕТИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ: РИСКИ И ПЕРСПЕКТИВЫ**¹Российская академия наук, Москва, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Новое направление в биологических исследованиях под общим названием «синтетическая биология» представляет собой следующий шаг в развитии генной инженерии, связанный с проектированием и построением уникальных биологических систем с «запрограммированными» функциями и свойствами, которые не имеют своих природных аналогов. В наши дни синтетическая биология служит источником инноваций, которые обещают решить ряд глобальных проблем, стоящих перед человечеством. В том числе получение на основе искусственных геномов мультидиагностических платформ, лекарственных препаратов, синтетических вакцин и другие. Создание синтетических форм жизни указывает на необходимость развития их мониторинга как на международном, так и национальном уровнях на основе новой системы оценки рисков биологической безопасности.

Ключевые слова: искусственный геном, секвенирование и синтез нуклеиновых кислот, 4D-принтеры, третья пара оснований ДНК, контроль рисков в области синтетической биологии.

G.G.Onishchenko¹, V.V.Kutyrev², G.N.Odinokov², V.A.Safronov²**Synthetic Biology: Risks and Prospects**¹Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation; ²Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

New area of biological studies that goes under general name of "synthetic biology" is a next step in the development of gene engineering associated with design and construction of unique biological systems with "preset" functions and properties, having no natural analogues. Nowadays synthetic biology is a source of innovations that offer solution to a number of global problems facing the humanity, including production of artificial genome-based multi-diagnostic panels, medicinal preparations, synthetic vaccine, etc. The process of unnatural life form creation requires conduction of monitoring both on the international and national scales using advanced system of biological risk assessment.

Key words: artificial genome, sequencing and synthesis of nucleic acids, 4D-printers, the third DNA base pair, and risk control in the sphere of synthetic biology.

Одним из величайших научных достижений в области биологии XX столетия явилось открытие пространственной структуры дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), а также молекулярных механизмов, обеспечивающих сохранение, передачу и реализацию наследственной информации. Эти открытия послужили началом эпохи молекулярной биологии, дальнейшим развитием которой стало новое научное направление под общим названием «синтетическая биология».

Впервые термин «синтетическая биология» («synthetic biology») был предложен немецким биохимиком Барбарой Хобом (Barbara Hobom) в 1980 г. для описания трансгенной бактерии, полученной с помощью технологии рекомбинантной ДНК. Впоследствии, на многие годы, термин «синтетическая биология» практически вышел из употребления в научном сообществе, за исключением ряда работ середины 90-х годов XX века, в том числе исследований Клауса Концельманна (Klaus Conzelmann) и Матиаса Шнеля (Mathias Schnell), посвященных созданию синтетических аналогов геномной одноцепочечной (-)РНК вируса бешенства [2].

Синтетическая биология – это новое направление в биологических исследованиях, представляющее собой следующий шаг в развитии генной ин-

женерии от перемещения нескольких генов между организмами к проектированию и построению уникальных биологических систем с «запрограммированными» функциями и свойствами. На пути создания искусственного генома исследователям предстояло решить задачу, связанную с определением нуклеотидной последовательности природных молекул геномной ДНК (РНК). В 70-е годы XX века были разработаны различные методические подходы по секвенированию ДНК. Англичанином Фредериком Сэнгером (Frederick Sanger) были предложены методы секвенирования нуклеиновых кислот, известные как «плюс-минус» (1975 г.), и метод терминаторов (1977 г.), американцами Алланом Максамом (Allan Maxam) и Уолтером Гилбертом (Walter Gilbert) – метод химической дегградации (1976–1977 гг.). Исторически самым «долгоживущим» оказался метод терминаторов, основанный на использовании дидезоксинуклеозидтрифосфатов (ddATP, ddTTP, ddCTP или ddGTP), которые могут включаться в растущую цепь ДНК, но не способны образовывать фосфодиэфирные связи из-за отсутствия 3'-ОН группы. Претерпев небольшие модификации, в том числе отказ от радиоактивных меток в пользу флуоресцентных красителей, этот метод применяется в современных приборах – капиллярных секвенаторах. В то же

время метод капиллярного секвенирования имеет серьезное ограничение, связанное с предельными размерами «участков-чтения» ДНК, которые, как правило, не превышают 1000 п.н. Тем не менее, с помощью автоматизированного секвенирования перекрывающихся фрагментов ДНК по методу Сенгера были получены первые полногеномные последовательности (whole genome sequencing, WGS): в 1977 г. бактериофага phiX174 (5,386 Kb, 11 генов), в 1995 г. штамма Rd *Haemophilus influenzae* (1,830137 Mb, 2355 генов), в 1997 г. штамма K12 *Escherichia coli* (4,64 Mb, 4497 генов) и многие другие.

Основные успехи в развитии синтетической биологии связаны с развитием технологии секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS). Принципиальным отличием метода NGS от капиллярного секвенирования является массовое параллельное прочтение огромного количества относительно небольших фрагментов ДНК (100 п.н.), что позволяет проводить полногеномное секвенирование de novo. Так, полногеномный секвенатор второго поколения Illumina GAIIx позволяет получать до 10 млрд нуклеотидов за один запуск (геном *Escherichia coli* – 4,6 м.п.н., *Homo sapiens* – 3,2 млрд п.н.), а стоимость секвенирования индивидуального генома человека составляет 5 тыс. долларов США. Последний в линейке приборов комплекс – Illumina HiSeqX Ten (2013 г.) – применяется для популяционного секвенирования и позволяет за 1 неделю секвенировать 320 геномов *Homo sapiens*, за 1 месяц – 1500, а за год – 18000. При этом стоимость процедуры снижена до 1 тыс. долларов США за геном человека.

Параллельно с методом секвенирования ДНК развивались технологии синтеза из отдельных нуклеотидов коротких олигонуклеотидов (с заданной последовательностью) и их «сшивание» в более длинные полинуклеотидные цепи, которые могут служить основой для создания искусственного гена и генома. В 1970 г. американский ученый индийского происхождения Хар Гобинд Корана (Har Gobind Khorana) впервые осуществил ферментативный синтез гена алланин-тРНК пекарских дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*) с применением полимераз и лигаз.

Впоследствии химико-ферментным методом были синтезированы нуклеотидные последовательности генов, кодирующих первичную структуру предшественников инсулина, соматотропина, тиреотропин-рилизинг-гормона, α -, β -, γ -интерферонов и другие, которые применялись для создания трансгенных микроорганизмов методом геной инженерии.

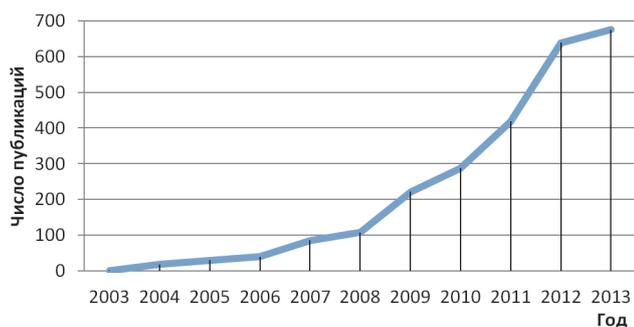
Для синтеза бактериальных геномов была разработана технология получения больших фрагментов ДНК, в соответствии с которой химически синтезированные полинуклеотиды объединялись в перекрывающиеся кассеты (7–8 т.п.н.) *in vitro* при помощи соответствующих ферментов до размера 1/4 генома. Полная сборка генома из четырех оставшихся фрагментов осуществлялась *in vivo* в клетках *S. cerevisiae*.

Дальнейшее развитие технологии сборки искусственных геномов из полинуклеотидных цепей позволило проводить всю операцию *in vitro* без применения метаболического аппарата дрожжевой клетки [3].

Основные достижения в области синтетической биологии XXI века связаны с именем американского генетика Крейга Вентера (Craig Venter) и созданного им института в США, носящего его имя. В 2003 г. группе исследователей под руководством К. Вентера удалось синтезировать геномную ДНК бактериофага phiX174 (5386 п.н.), в 2008 г. синтезирован полный бактериальный геном *Mycoplasma genitalium* размером 580 т.п.н., а в 2010 г. – геном *Mycoplasma mycoides* JCVI-syn1.0 размером 1,08 м.п.н. [3, 4].

В 2014 г. в журнале Science была опубликована работа, посвященная созданию «усовершенствованной» эукариотической синтетической хромосомы *S. cerevisiae*, выполненная в рамках проекта «Sc2.0» [5]. Группе из 49 студентов под руководством Джефа Боеке (Jef Boeke) за полтора года удалось синтезировать и собрать 272871 п.н. искусственной хромосомы synIII – «дизайнерского» варианта природной третьей хромосомы *S. cerevisiae*, размер которой составляет 316667 п.н. В синтетической хромосоме synIII авторы удалили некоторые фрагменты – интроны (некодирующие участки), мигрирующие генетические элементы (МГЭ), субтеломерные участки, псевдогены, а также произвели оптимизацию кодонов (например, заменили стоп-кодон TAG на TAA). Шаблон синтетической хромосомы был разработан *in silico* (на компьютере), а в последствии синтезирован и собран в несколько этапов. На первом этапе с помощью ПЦР перекрывающиеся олигонуклеотидные фрагменты (из 60–79 п.н.) собирались в более длинные цепочки из 750 п.н. и встраивались в векторные плазмиды. На втором этапе проводили трансформацию этими плазмидами бактериальных клеток. Между плазмидами, в цитоплазме бактериальных клеток, происходила гомологичная рекомбинация и сборка более крупных фрагментов – от 2 до 4 т.п.н. На заключительном этапе плазида-переносчик с крупным фрагментом помещалась в клетки дрожжей, где происходила гомологичная рекомбинация между естественной третьей хромосомой и фрагментом синтетической хромосомы в составе плазмиды. Таким образом, часть естественной хромосомы заменялась участком из synIII, а после нескольких повторений этой процедуры (11 повторений) вся третья хромосома представляла собой «дизайнерскую» последовательность синтетической хромосомы. Научная группа Д. Боеке ставит планы по созданию полного синтетического генома *S. cerevisiae* в ближайшие несколько лет. При этом они предполагают, что в дрожжевой геном возможно внести гораздо более серьезные изменения, которые будут использоваться для решения различных биотехнологических задач, а также в фундаментальных исследованиях, в том числе посвященных вопросам эволюции синтетического генома.

Очевидный рост интереса (рисунок) к син-



Динамика публикации статей по теме «синтетическая биология»

тетической биологии во многом обусловлен теми возможностями, которые открываются перед человечеством. В том числе «синтетическая биология» позволяет решить ряд глобальных проблем: получение биотоплива из водорослей, бактериального электричества и лекарственных препаратов. В настоящее время синтетическая биология рассматривается как источник инноваций для получения диагностических препаратов и мульти-диагностических платформ, предлагается синтетическая вакцина против гриппа, терапевтические препараты (бактериофагов, пробиотиков для лечения сальмонеллеза, холеры и др. инфекционных болезней), в сельском хозяйстве для повышения продуктивности и устойчивости растений и животных [1, 6, 7, 8, 9, 10].

Большие перспективы открывает возможность совместного использования технологии создания искусственного генома и 4-D принтеров – устройств, использующих метод послойного создания физического объекта по цифровой 3D-модели. 4D-принтер является усовершенствованной версией промышленной модификации трехмерного принтера. 4D-принтер может «распечатывать» объекты, способные к самоорганизации, т.е. самостоятельно принимающие нужную форму. Группой ученых из Оксфордского университета в 2013 г. с помощью 4D-принтера были синтезированы липосомы (фосфолипиды с водой, замкнутые в двуслойные пузырьки) – искусственные мембранные платформы. Контролируемое введение специализированных белков (аналог мембранных белков) в такие искусственные системы формирует щелевые контакты (gap junctions), способные присоединить липосомы и образовывать сплоченную, кооперативную систему. Исследователям удалось создать целую «сеть» из 35000 капель, которая по своей эластичности сходна с мозговой или жировой тканью и может сохранять свое состояние вплоть до нескольких недель. Кроме того, в искусственную мембрану были интегрированы «трансмембранные» белки с транспортной функцией, что создавало разность физико-химических параметров в липосоме и окружающей среде. Это пример перспективной искусственной платформы для построения более сложных и функциональных устройств, которые в будущем включали искусственный геном. Такие синтетические ткани могут быть интегрированы с живыми организмами и заменять отсутствующие или

поврежденные органы или их фрагменты [11].

Учитывая всю сложность синтетических систем, крайне трудно предсказать все последствия их функционирования. На сегодняшний день синтезирован геном вируса полиомиелита [12] и гриппа А/Н1N1 («Испанки») [13], всерьез рассматривается возможная угроза применения синтетических геномов вирусов в качестве агентов биотерроризма. В сельском хозяйстве имеются примеры появления «супер сорняков», устойчивости к гербициду глифосфату, что приводит к нарушению экологического баланса [14]. Одним из ярких примеров новых угроз является возможность появления ранее недоступных способов производства наркотических средств. В частности, не пригодный для получения морфина – опиумного алколоида – прицветниковый мак (*Papaver bracteatum*) становится его продуцентом. Описан эксперимент получения трансгенных бактерий (*Agrobacterium rhizogenes*), содержащих рекомбинантную плазмиду со встроенным геном *codR* (фермента кодеин-редуктазы) опиумного мака (*Papaver somniferum*). Такие генномодифицированные бактерии использовались для трансформации корневых волосков прицветникового мака, в результате чего продукция ими морфина увеличивалась, по сравнению с диким типом, на 22 % [15]. Как известно, морфин может быть использован не только в медицинских целях, но и для получения наркотических препаратов – морфия (морфина гидрохлорид тригидрата), героина (диаморфина) и др. Осложняет ситуацию отсутствие регламентирующих документов по культивированию *P. bracteatum* и мониторингу его дикорастущих популяций. Согласно Списку сильнодействующих и ядовитых веществ (утв. Постоянным комитетом по контролю наркотиков Российской Федерации 24.11.2004) опий представляет собой свернувшийся млечный сок опийного мака (*P. somniferum*), а не прицветникового (*P. bracteatum*).

Последние достижения в области компьютерной техники – рост вычислительных мощностей, возможность хранения больших объемов информации и новые алгоритмы анализа и моделирования живых систем дают исследователям-биоинформатикам возможность совершать фундаментальные открытия без необходимости проведения классического эксперимента. В настоящее время появилось большое количество общедоступных баз данных, содержащих нуклеотидные последовательности ДНК и РНК (в том числе высокопатогенных возбудителей болезней человека и животных), информацию о пространственной структуре белковых молекул и метаболических путях различных организмов от вируса до человека – все это открывает новые перспективы применения компьютерных технологий (*in silico*) в биологических исследованиях, в том числе и посвященных созданию искусственных форм жизни. Биологические лаборатории, реализующие биоинформационный подход в своих исследованиях, в английском языке называют «сухими» (dry lab), в про-

тивовес классическим «мокрым» лабораториям (wet lab), где основу исследований составляют сделанные руками эксперименты. Примером «сухой» лаборатории может служить лаборатория Атула Бьюта (Atul Butte) медицинского факультета Стэнфордского университета, которая известна открытиями в области изучения диабета, ожирения, трансплантологии и обнаружения новых лекарств для лечения рака легких и других заболеваний [16, 17, 18]. Сотрудники этой лаборатории большую часть времени проводят за ноутбуками, иногда обращаясь к большому компьютерному кластеру Стэнфордского университета или другому суперкомпьютеру. Для повышения эффективности блока экспериментальной «мокрой» лаборатории в настоящее время активно применяются автоматизированные системы, которые многократно ускоряют ход научных исследований и снижают их трудоемкость.

Таким образом, оценивая дальнейшие перспективы развития синтетической биологии, следует выделить три ключевых аспекта: научно-технический, законодательный и организационно-контрольный.

Следует особо подчеркнуть увеличение темпов роста исследовательских работ по всему миру и явную тенденцию к усложнению продуктов синтетической биологии. Наблюдается активное вовлечение национальных оборонных структур. В частности, в апреле 2014 г. в 56-ю годовщину создания агентства передовых исследовательских проектов при Министерстве обороны США, более известного как DARPA (Defense Advanced Research Projects Agency), было объявлено о создании в своей структуре нового подразделения – отдела биологических технологий. Революция в этой области знаний развивается многократно быстрее, чем это декларирует закон Мура (1965 г.) – статистический прогноз бывшего главы компании Intel Гордона Мура (Gordon Moore), который предполагает не линейное, а экспоненциальное развитие всех технологий. Важным качественным аспектом научного развития в данной области является переход от манипулирования аналогами крупных участков природных геномов к прямому проектированию на основе комбинации отдельных функциональных блоков. При этом главная проблема при создании искусственного генома на основе синтетических генных сетей, не имеющих естественных аналогов, будет связана с проектированием *in silico* принципиально новых полипептидов с определенной пространственной структурой и «запрограммированной» функцией. В перспективе станет возможным создание искусственных геномов уже не на основе природных аналогов, и даже не матриц ДНК-РНК, а основанных на иных принципах кодирования, чем естественные геномы. Уже сейчас рассматриваются варианты замещения ДНК ее синтетическим аналогом пептидно-нуклеиновой кислотой (ПНК, PNA), в которой сахаро-фосфатный остов заменен на линейные полимеры N-(2-аминоэтил)глицина и на которую нанизаны нуклеозидные остатки. В отличие от

своего природного аналога ПНК будет находиться не внутри клетки, а на поверхности мембраны вместе с другими органеллами [19].

В 2014 г. группе американских исследователей под руководством Флойда Ромсберга (Floyd Romesberg) из института Скриппса (The Scripps Research Institute) удалось внести корректировки в генетический код. Синтезированная учеными плазмида содержала, наряду с естественными парами комплементарных гетероциклических оснований – аденин (А) и тимин (Т), гуанин (G) и цитозин (С) – искусственную пару d5SICS- dNaM, обозначенную авторами как X-Y. Синтетическая плазмида, интегрированная в геном *E. coli*, показала способность к репликации без потери под действием механизмов репарации X-Y пар до тех пор, пока синтетические основания d5SICS и dNaM поступают в среду, содержащую бактерии. На следующем этапе исследователи должны проверить, возможна ли транскрипция полусинтетической ДНК – синтез информационной РНК, которая в дальнейшем принимает участие в синтезе белковых молекул. Ученым удалось увеличить информационную емкость молекулы ДНК, что в будущем позволит дополнить природный «белковый словарь» совершенно новыми протеинами для создания на их основе лекарственных, диагностических и вакцинных препаратов [20, 21]. По мере накопления практического опыта будут совершенствоваться и алгоритмы биоинформатики, делая поиск устойчивых искусственных форм жизни с заданными свойствами более эффективным и целенаправленным. В итоге, благодаря развитию 4-D принтеров синтетическая биология сможет перейти от одноклеточных продуктов на уровень искусственных тканей и органов.

Следующим аспектом является необходимость правового регулирования биологической безопасности синтетических форм жизни и системы их мониторинга на международном и национальном уровнях по новой системе оценки рисков, состоящей в комплексной, экспериментально доказательной проработке последствий в области синтетической биологии. В настоящее время законодательное и нормативное обеспечение работ, связанных с синтетической биологией в Российской Федерации, напрямую не регламентируется. При этом генно-инженерная деятельность регулируется рядом международных и национальных документов: Международными медико-санитарными правилами (2005 г.), Женевским протоколом (1925 г.), конвенцией КБТО (1972 г.), Картахенским протоколом (2003 г.), который не подписан Россией. Национальный уровень правового обеспечения представлен Федеральным Законом РФ (О государственном регулировании в области генно-инженерной деятельности, 1996 г.) и Санитарными правилами (1988 г.), которые охватывают работу с рекомбинантными ДНК. Вместе с тем очевидна недостаточность систем контроля за соблюдением имеющихся норм, а также тот факт, что последние революционные достижения в области синтетической

биологии уже вступают в противоречие с положениями действующих нормативных документов, что требует оперативной выработки новой нормативной базы и новых методов контроля.

В этой связи третьим аспектом является направление по усилению национальных мощностей по оценке и контролю рисков в области синтетической биологии. В Российской Федерации еще предстоит определить ведомственную структуру, обеспечивающую надзорные и контрольные функции в этой области, наделив ее не только полномочиями, но и соответствующей ресурсной базой. Адекватное организационное обеспечение контроля биосинтетических рисков может опираться на сеть научных центров, при условии оснащения передовым оборудованием и создания благоприятных условий для профильных коллективов путем целевого финансирования. Для полноценной реализации этого направления требуется комплексная национальная программа по развитию синтетической биологии с опережающим планированием и вовлечением всех профильных министерств и ведомств. Исходя из новых задач, усиление и модернизация практических учреждений, осуществляющих надзор и контроль на системном уровне, возможны путем создания многоуровневой сети профильных учреждений, работающих по аналогии с действующей трехуровневой системой лабораторной диагностики инфекционных болезней, опирающейся на крупные референс-центры.

В заключение следует отметить, что, помимо утилитарных вопросов оценки пользы или вреда, существует и этический аспект. Мировая научная общественность всерьез озабочена этикой искусственной эволюции, пытаясь найти ответ на вопрос: имеет ли право человек ускорять этот процесс в миллионы раз, не обладая достаточным уровнем предвидения последствий, действуя по принципу «осуществлять все, что технически достижимо»?

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Седова Е.С., Щербинин Д.Н., Мигунов А.И., Смирнов Ю.А., Логунов Д.Ю., Шмаров М.М., Цыбалова Л.М., Народицкий Б.С., Киселев О.И., Гинцбург А.Л. Гриппозные рекомбинантные вакцины. *Acta Nature*. 2012; 4(4):17–27.
2. Rawls R.L. 'Synthetic biology' makes its debut. *Chemical & Engineering News*. 2000; 78:49–53.
3. Gibson D.G., Glass J.I., Lartigue C., Noskov V.N., Chuang R.Y., Algire M.A., Benders G.A., Montague M.G., Ma L., Moodie M.M., Merryman C., Vashee S., Krishnakumar R., Assad-Garcia N., Andrews-Pfannkoch C., Denisova E.A., Young L., Qi Z.Q., Segall-Shapiro T.H., Calvey C.H., Parmar P.P., Hutchison C.A. 3rd, Smith H.O., Venter J.C. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science*. 2010; 329(5987):52–6.
4. Smith H.O., Hutchison C.A., Pfannkoch C., Venter J.C. Generating a synthetic genome by whole genome assembly: phiX174 bacteriophage from synthetic oligonucleotides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003; 100(26):15440–45.
5. Annaluru N., Muller H., Mitchell L.A., Ramalingam S., Stracquadanio G., Richardson S.M., Dymond J.S., Kuang Z., Scheifele L.Z., Cooper E.M., Cai Y., Zeller K., Agmon N., Han J.S., Hadjithomas M., Tullman J., Caravelli K., Cirelli K., Guo Z., London V., Yeluru A., Murugan S., Kandavelou K., Agier N., Fischer G., Yang K., Martin J.A., Bilgel M., Bohutski P., Boulier K.M., Capaldo B.J., Chang J., Charoen K., Choi W.J., Deng P., DiCarlo J.E., Doong J., Dunn J., Feinberg J.I., Fernandez C., Floria C.E., Gladowski D., Hadidi P., Ishizuka I., Jabbari J., Lau C.Y., Lee P.A., Li S., Lin D., Linder M.E., Ling J., Liu J., Liu J., London M., Ma H., Mao J., McDade J.E., McMillan A., Moore A.M., Oh W.C., Ouyang Y., Patel

R., Paul M., Paulsen L.C., Qiu J., Rhee A., Rubashkin M.G., Soh I.Y., Sotuyo N.E., Srinivas V., Suarez A., Wong A., Wong R., Xie W.R., Xu Y., Yu A.T., Koszul R., Bader J.S., Boeke J.D., Chandrasegaran S. Total Synthesis of a Functional Designer Eukaryotic Chromosome. *Science*. 2014; 344:55–8.

6. Dormitzer P.R., Suphaphiphat P., Gibson D.G., Wentworth D.E., Stockwell T.B., Algire M.A., Alperovich N., Barro M., Brown D.M., Craig S., Dattilo B.M., Denisova E.A., De Souza I., Eickmann M., Dugan V.G., Ferrari A., Gomila R.C., Han L., Judge C., Mane S., Matrosovich M., Merryman C., Palladino G., Palmer G.A., Spencer T., Strecker T., Trusheim H., Uhlendorff J., Wen Y., Yee A.C., Zaveri J., Zhou B., Becker S., Donabedian A., Mason P.W., Glass J.I., Rappuoli R., Venter J.C. Synthetic generation of influenza vaccine viruses for rapid response to pandemics. *Sci. Transl. Med.* 2013; 5(185):185ra68. DOI 10.1126/scitranslmed.3006368.

7. Krylov V., Shaburova O., Krylov S., Pleteneva E. A genetic approach to the development of new therapeutic phages to fight *Pseudomonas aeruginosa* in wound infections. *Viruses*. 2012; 5(1):15–53.

8. Connor M.W., Stemerding D.D. Governing synthetic biology for global health through responsible research and innovation. *Syst. Synth. Biol.* 2013; 7(1):139–50.

9. Karas B.J., Molparia B., Jablanovic J., Hermann W.J., Lin Y.C., Dupont C.L., Tagwerker C., Yonemoto I.T., Noskov V.N., Chuang R.Y., Allen A.E., Glass J.I., Hutchison C.A. 3rd, Smith H.O., Venter J.C., Weyman P.D. Assembly of eukaryotic algal chromosomes in yeast. *J. Biol. Eng.* 2013; 7(1):30.

10. Rooke J. Synthetic biology as a source of global health innovation. *Syst. Synth. Biol.* 2013; 7(1):67–72.

11. Villar G., Graham A.D., Bayley H.A. Tissue-Like Printed Material. *Science*. 2013; 340(6128):48–52.

12. Cello J., Paul A.V., Wimmer E. Chemical synthesis of poliovirus cDNA: Generation of infectious virus in the absence of natural template. *Science*. 2002; 297:1016–8.

13. Wimmer E., Mueller S., Tumpey T.M., Taubenberger J.K. Synthetic viruses: a new opportunity to understand and prevent viral disease. *Nat. Biotechnol.* 2009; 27(12):1163.

14. Adler J. The growing menace from superweeds. *Sci. Am.* 2011; 304(5):74–9.

15. Sharafi A., Sohi H.H., Mousavi A., Azadi P., Khalifani B.H., Razavi K. Metabolic engineering of morphinan alkaloids by over-expression of codeinone reductase in transgenic hairy roots of *Papaver bracteatum*, the Iranian poppy. *Biotechnol. Lett.* 2013; 35(3):445–53.

16. Janusz M., Sorkin M., Glotzbach J.P., Vial I.N., Maan Z., Rennert R.C., Duscher D., Thangarajah H., Longaker M.T., Butte A.J., Gurtner G.C. Diabetes Irreversibly Depletes Bone Marrow-Derived Mesenchymal Progenitor Cell Subpopulations. *J. Diabetes*. 2014; [Epub. ahead of print]. DOI: 10.2337/db13-1366.

17. Shaikh A.R., Butte A.J., Schully S.D., Dalton W.S., Khoury M.J., Hesse B.W. Collaborative biomedicine in the age of big data: the case of cancer. *J. Med. Internet. Res.* 2014; 16(4):e101. DOI 10.2196/jmir.2496.

18. Chen R., Khatri P., Mazur P.K., Polin M., Zheng Y., Vaka D., Hoang C.D., Shrager J., Xu Y., Vicent S., Butte A.J., Sweet-Cordero E.A. A meta-analysis of lung cancer gene expression identifies PTK7 as a survival gene in lung adenocarcinoma. *Cancer Res.* 2014; [Epub. ahead of print].

19. Bentin T., Nielsen M.L. RNA-DNA sequence differences spell genetic code ambiguities. *Artif. DNA PNA XNA*. 2011; 2(3):69–70.

20. Malyshev D.A., Dhami K., Lavergne T., Chen T., Dai N., Foster J.M., Corrèa I.R.Jr., Romesberg F.E. A semi-synthetic organism with an expanded genetic alphabet. *Nature*. 2014; DOI 10.1038/nature13314. [Epub ahead of print].

21. Thyer R., Ellefson J. New letters for life's alphabet. *Nature*. 2014; DOI 10.1038/nature13335. [Epub ahead of print].

References

1. Sedova E.S., Shcherbinin D.N., Migunov A.I., Smirnov Yu.A., Logunov D.Yu., Shmarov M.M., Tsybalova L.M., Naroditsky B.S., Kiselev O.I., Gintsburg A.L. [Influenza recombinant vaccines]. *Acta Nature*. 2012; 4(4):17–27.
2. Rawls R.L. 'Synthetic biology' makes its debut. *Chemical & Engineering News*. 2000; 78:49–53.
3. Gibson D.G., Glass J.I., Lartigue C., Noskov V.N., Chuang R.Y., Algire M.A., Benders G.A., Montague M.G., Ma L., Moodie M.M., Merryman C., Vashee S., Krishnakumar R., Assad-Garcia N., Andrews-Pfannkoch C., Denisova E.A., Young L., Qi Z.Q., Segall-Shapiro T.H., Calvey C.H., Parmar P.P., Hutchison C.A. 3rd, Smith H.O., Venter J.C. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science*. 2010; 329(5987):52–6.
4. Smith H.O., Hutchison C.A., Pfannkoch C., Venter J.C. Generating a synthetic genome by whole genome assembly: phiX174 bacteriophage from synthetic oligonucleotides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003; 100(26):15440–45.
5. Annaluru N., Muller H., Mitchell L.A., Ramalingam S., Stracquadanio G., Richardson S.M., Dymond J.S., Kuang Z., Scheifele L.Z., Cooper E.M.,

- Cai Y., Zeller K., Agmon N., Han J.S., Hadjithomas M., Tullman J., Caravelli K., Cirelli K., Guo Z., London V., Yeluru A., Murugan S., Kandavelou K., Agier N., Fischer G., Yang K., Martin J.A., Bilgel M., Bohutski P., Boulier K.M., Capaldo B.J., Chang J., Charoen K., Choi W.J., Deng P., DiCarlo J.E., Doong J., Dunn J., Feinberg J.I., Fernandez C., Floria C.E., Gladowski D., Hadidi P., Ishizuka I., Jabbari J., Lau C.Y., Lee P.A., Li S., Lin D., Linder M.E., Ling J., Liu J., Liu J., London M., Ma H., Mao J., McDade J.E., McMillan A., Moore A.M., Oh W.C., Ouyang Y., Patel R., Paul M., Paulsen L.C., Qiu J., Rhee A., Rubashkin M.G., Soh I.Y., Sotuyo N.E., Srinivas V., Suarez A., Wong A., Wong R., Xie W.R., Xu Y., Yu A.T., Koszul R., Bader J.S., Boeke J.D., Chandrasegaran S. Total Synthesis of a Functional Designer Eukaryotic Chromosome. *Science*. 2014; 344:55–8.
6. Dormitzer P.R., Suphaphiphat P., Gibson D.G., Wentworth D.E., Stockwell T.B., Algire M.A., Alperovich N., Barro M., Brown D.M., Craig S., Dattilo B.M., Denisova E.A., De Souza I., Eickmann M., Dugan V.G., Ferrari A., Gomila R.C., Han L., Judge C., Mane S., Matrosovich M., Merryman C., Palladino G., Palmer G.A., Spencer T., Strecker T., Trusheim H., Uhlendorff J., Wen Y., Yee A.C., Zaveri J., Zhou B., Becker S., Donabedian A., Mason P.W., Glass J.I., Rappuoli R., Venter J.C. Synthetic generation of influenza vaccine viruses for rapid response to pandemics. *Sci. Transl. Med.* 2013; 5(185):185ra68. DOI 10.1126/scitranslmed.3006368.
7. Krylov V., Shaburova O., Krylov S., Pleteneva E. A genetic approach to the development of new therapeutic phages to fight *Pseudomonas aeruginosa* in wound infections. *Viruses*. 2012; 5(1):15–53.
8. Connor M.W., Stemerding D.D. Governing synthetic biology for global health through responsible research and innovation. *Syst. Synth. Biol.* 2013; 7(7):139–50.
9. Karas B.J., Molparia B., Jablanovic J., Hermann W.J., Lin Y.C., Dupont C.L., Tagwerker C., Yonemoto I.T., Noskov V.N., Chuang R.Y., Allen A.E., Glass J.I., Hutchison C.A. 3rd, Smith H.O., Venter J.C., Weyman P.D. Assembly of eukaryotic algal chromosomes in yeast. *J. Biol. Eng.* 2013; 7(1):30.
10. Rooke J. Synthetic biology as a source of global health innovation. *Syst. Synth. Biol.* 2013; 7(7):67–72.
11. Villar G., Graham A.D., Bayley H.A. Tissue-Like Printed Material. *Science*. 2013; 340(6128):48–52.
12. Cello J., Paul A.V., Wimmer E. Chemical synthesis of poliovirus cDNA: Generation of infectious virus in the absence of natural template. *Science*. 2002; 297:1016–8.
13. Wimmer E., Mueller S., Tumpey T.M., Taubenberger J.K. Synthetic viruses: a new opportunity to understand and prevent viral disease. *Nat. Biotechnol.* 2009; 27(12):1163.
14. Adler J. The growing menace from superweeds. *Sci. Am.* 2011; 304(5):74–9.
15. Sharafi A., Sohi H.H., Mousavi A., Azadi P., Khalifani B.H., Razavi K. Metabolic engineering of morphinan alkaloids by over-expression of co-deinone reductase in transgenic hairy roots of *Papaver bracteatum*, the Iranian poppy. *Biotechnol. Lett.* 2013; 35(3):445–53.
16. Januszyk M., Sorkin M., Glotzbach J.P., Vial I.N., Maan Z., Rennert R.C., Duscher D., Thangarajah H., Longaker M.T., Butte A.J., Gurtner G.C. Diabetes Irreversibly Depletes Bone Marrow-Derived Mesenchymal Progenitor Cell Subpopulations. *J. Diabetes*. 2014; [Epub. ahead of print]. DOI: 10.2337/db13-1366.
17. Shaikh A.R., Butte A.J., Schully S.D., Dalton W.S., Khoury M.J., Hesse B.W. Collaborative biomedicine in the age of big data: the case of cancer. *J. Med. Internet. Res.* 2014; 16(4):e101. DOI 10.2196/jmir.2496.
18. Chen R., Khatri P., Mazur P.K., Polin M., Zheng Y., Vaka D., Hoang C.D., Shrager J., Xu Y., Vicent S., Butte A.J., Sweet-Cordero E.A. A meta-analysis of lung cancer gene expression identifies PTK7 as a survival gene in lung adenocarcinoma. *Cancer Res.* 2014; [Epub. ahead of print].
19. Bentin T., Nielsen M.L. RNA-DNA sequence differences spell genetic code ambiguities. *Artif. DNA PNA XNA*. 2011; 2(3):69–70.
20. Malyshev D.A., Dhami K., Lavergne T., Chen T., Dai N., Foster J.M., Corrêa I.R.Jr., Romesberg F.E. A semi-synthetic organism with an expanded genetic alphabet. *Nature*. 2014; DOI 10.1038/nature13314. [Epub ahead of print].
21. Thyer R., Ellefson J. New letters for life's alphabet. *Nature*. 2014; DOI 10.1038/nature13335. [Epub ahead of print].

Authors:

Onishchenko G.G. Russian Academy of Science. Moscow, Russian Federation.

Kutyrev V.V., Odnokov G.N., Safronov V.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Онищенко Г.Г. Российская академия наук. Москва, Российская Федерация.

Кутырев В.В., Одинокоев Г.Н., Сафронов В.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 26.06.14.