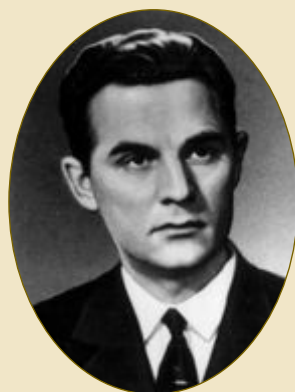


· БЕЛОЗЕРСКИЙ · ТОДД · СЕНГЕР · ОЧОА ·

· КОЛЬЦОВ · ШРЕДИНГЕР · ЭЙВЕРИ · ЧАРГАФФ · УОТСОН · КРИК ·

**ВЕСТНИК**  
**биотехнологии**  
**и физико-химической**  
**биологии**  
**имени Ю.А. Овчинникова**



**Т. 2, № 4**  
**2006**

· КОРНБЕРГ · НИРЕНБЕРГ · КОРАНА · ТЕМИН · БАЛТИМОР · БАЕВ ·

· СМИТ · ГИЛБЕРТ · БЕРГ · ЭНГЕЛЬГАРТ ·

**ВЕСТНИК БИОТЕХНОЛОГИИ  
И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ  
ИМЕНИ Ю.А. ОВЧИННИКОВА**

**Научно-практический журнал**

**Основан в 2005 году**

**Главный редактор**

Р.Г. Василев

**Редакционная коллегия**

Е.Г. Борисенко, В.С. Воробьев, С.И. Матаев, Ю.В. Махотин, О.Я. Мезенова

**Редакционный совет**

В.А. Быков (Москва), В.А. Вахитов (Уфа), А.А. Воробьев (Москва),  
В.Г. Дебабов (Москва), В.В. Зверев (Москва), А.И. Иваненко (Москва),  
В.Т. Иванов (Москва), Л.В. Калакуцкий (Пуцзино), М.П. Кирпичников (Москва),  
О.И. Киселев (Санкт-Петербург), А.И. Мирошников (Москва), Т.В. Овчинникова (Москва),  
О.Н. Озолинь (Пуцзино), Е.Н. Орешкин (Москва), А.Н. Панин (Москва),  
Е.В. Пименов (Киров), В.О. Попов (Москва), Л.С. Сандахчиев (Новосибирск),  
К.Г. Скрябин (Москва), Г. Хаммерлинг (Германия), Р.М. Хаитов (Москва),  
В.И. Швець (Москва), Н.К. Янковский (Москва)

Журнал зарегистрирован в Росохранкультуре  
Рег. ПИ № ФС77-19745 от 11 апреля 2005 г.

Зав. редакцией О.В. Воробьева  
Адрес: 119296 Москва, Университетский пр-т, 9  
Тел.: 8-916-640-76-18, 8-903-143-99-14  
E-mail: obr@biorosinfo.ru, ptashka095@rambler.ru

Учредитель и издатель:

АНО «Информационно-аналитический центр  
медико-социальных проблем»  
Адрес: 127581 Москва, Керамический проезд, 53, кор. 1  
Тел.: 8-916-251-64-13  
E-mail: raifvasilov@hotmail.com

*Издается при поддержке  
Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова*

**СОДЕРЖАНИЕ**

**Колонка главного редактора**

К читателям. *Р.Г. Василев* .....6

**Оригинальные статьи**

Биосинтез янтарной кислоты дрожжами из этилового спирта.  
*А.И. Юсупова, С.В. Камзолова, Т.Н. Козырева, И.Г. Моргунов* .....7

**Краткие сообщения**

Системный подход в биохимических исследованиях протеолитического процессинга протеома живых систем.  
*Т.С. Тропынина, Э.А. Иванова, Г.Х. Вафина, Р.С. Иванов, Т.Р. Ясаков, Т.В. Маркушева* ..... 14

Биоиндикация и биоремедиация почв нарушенных лесных экосистем Сибири.  
*Н.Д. Сорокин, И.Д. Гродницкая, С.Ю. Евграфова, Н.В. Пашенова* ..... 16

Разработка и расширение сферы применения биологически активных препаратов на основе сырья природного происхождения.  
*А.И. Албулов, М.А. Фролова, А.Я. Самуйленко, В.И. Еремец, Е.В. Шмидт* ..... 18

Перспективы создания новых форм биопрепаратов на основе сибирских биоконтрольных штаммов *Trichoderma*.  
*В.С. Садыкова, Т.И. Громовых, А.В. Кураков, А.Н. Лихачев* ..... 20

Биоинженерные технологии в животноводстве: состояние исследований в России.  
*В.П. Рябых, Л.К. Эрнст* ..... 22

Биотехнология как национальный приоритет России на ближайшую и отдаленную перспективу.  
*Р.Г. Василев* ..... 24

Проблемы биотехнологического образования и подготовки кадров биотехнологов.  
*В.И. Швецу* ..... 26

Комплексное использование биологически активных метаболитов лакто- и бифидобактерий в производстве пробиотиков.  
*В.А. Несчислаев, Е.И. Молохова, Л.П. Чистохина, Ю.В. Сорокина, И.В. Белова* ..... 29

Эффективность экспрессии и экологической безопасности использования пробиотика *Bacillus subtilis 2335/ρВМВ105*, продуцента  $\alpha 2$ -интерферона человека.  
*Т.Ю. Крылова, Т.В. Каргатова, О.А. Могильная* ..... 31

Биотехнологические способы модификации отходов переработки гидробионтов.  
*Т.К. Каленик, О.В. Табакаева* ..... 33

Потенциально морфогенные андроклинные каллусы как дополнительный источник получения дигаплоидов.  
*Д.Ю. Зайцев* ..... 35

Синтез С-концевых аналогов дерморфина и исследование фармакокинетики и метаболизма при внутримышечном введении этих пептидов. *П.С. Громовых, К.В. Шевченко, Л.А. Андреева, Л.Ю. Алфеева, В.П. Шевченко, И.Ю. Нагаев, Н.Ф. Мясоедов* ..... 37

Разработка экспресс-метода для видового контроля штаммов-продуцентов многокомпонентных пробиотиков.  
*А.Г. Точилина, Н.А. Новикова, И.В. Соловьева, К.Я. Соколова, И.В. Белова, Т.П. Иванова* ..... 39

Получение гаплоидов яровой мягкой пшеницы через формирование полиэмбриоидов.  
*О.А. Сельдимирова* ..... 41

Влияние автолиза на перевариваемость мяса раков.  
*Л.В. Антипова, В.Н. Горностай* ..... 43

Доставка актиномицинов к ДНК с помощью шпилечных олигонуклеотидов и кофеина. <i>М.А. Битехтина, А.Э. Ковалев, И.В. Савинцев, Н.Л. Векшин</i> .....	45
Биологическая реабилитация земель, загрязненных нефтепродуктами, в условиях Южного Федерального округа. <i>Э.В. Карасева, А.А. Худокормов, А.А. Самков, С.Г. Карасев, Н.Н. Волченко</i> .....	47
Жизнеспособность эмбрионов и интеграция трансгена при совместном введении в пронуклеусы мышинных зигот генно-инженерной конструкции и рестриктазы. <i>О.Б. Фаткулина</i> .....	49
Разработка системы генной трансформации ряски, <i>Lemna minor</i> . <i>С.Е. Гайдукова, А.М. Камионская</i> .....	51
Характеристика аминокислотного состава глубинной культуры грибов вешенки обыкновенной ( <i>Pleurotus ostreatus</i> ) и серно-желтого трутовика ( <i>Laetiporus sulphureus</i> ). <i>О.В. Уфимцева</i> .....	52
Получение клонированных эмбрионов крупного рогатого скота из соматических клеток при использовании в качестве цитопластов ооцитов, созревающих <i>in vitro</i> . <i>А.Г. Логинов, К.В. Кириенко, И.Г. Сметанина, Л.В. Татарина, А.С. Алгулян, В.П. Рябых</i> .....	54
Гидролитические ферменты из отходов переработки рыб Волго-Каспийского бассейна. <i>М.Д. Мукатова, Р.Р. Утеушев, Н.А. Киричко</i> .....	56
Биотехнология получения эмбрионально-сuspензорной массы и соматических зародышей лиственницы сибирской и сосны сибирской в культуре <i>in vitro</i> . <i>И.Н. Третьякова, А.С. Белорусова, С.С. Савельев, А.В. Лукина, М.Е. Ижболдина</i> .....	58
Влияние антропогенных загрязнителей на микробные популяции в экстенсивных системах. <i>Е.В. Симонова</i> .....	60
Биотехнология как основной подход в производстве иммунобиологических профилактических препаратов. <i>И.В. Нынь</i> .....	62
Эколого-биохимические исследования рыб семейства Лососевых, выращенных в условиях искусственного воспроизводства. <i>С.И. Овчинникова, Л.А. Похольченко, О.В. Михнюк, О.Г. Кривенко,</i> <i>Е.Б. Смирнова, А.Н. Матвеев, Р.О. Игумнов</i> .....	64
Совершенствование микробных препаратов на основе <i>Bacillus thuringiensis</i> . <i>Т.И. Патыка, Н.В. Кандыбин</i> .....	66
Показатель гидрофобности клеток в отборе штаммов-деструкторов при биостимуляции <i>in vitro</i> . <i>А.А. Самков, Н.Н. Волченко, Э.В. Карасева</i> .....	68

### **Страницы истории**

К 80-летию со дня рождения Пола Берга. Завершение молекулярно-генетической гонки эры ДНК. <i>О.В. Воробьева, В.С. Воробьев</i> .....	69
Юбилейные и знаменательные даты 2006 года .....	72

### **Хроника**

События второго полугодия 2006 года .....	75
---	----

### **Информация**

Предстоящие мероприятия 2007 года.....	78
--	----

<b>Правила для авторов</b> .....	79
----------------------------------	----

CONTENTS

Column of the editor-in-chief

To readers. *R.G. Vasilov* ..... 6

Original articles

Yeast biosynthesis of succinic acid from ethyl alcohol.  
*A.I. Yusupova, S.V. Kamzolova, T.N. Kozyreva, I.G. Morgunov* ..... 7

Short communications

Systematic approach to biochemical studies of the proteolytic processing of proteome living systems.  
*T.S. Tropynina, E.A. Ivanova, G.H. Vafina, R.S. Ivanov, T.R. Yasakov, T.V. Markusheva* ..... 14

Bioindication and bioremediation of soils in Siberian damaged forest ecosystems.  
*N.D. Sorokin, I.D. Grodnitskaya, S.Yu. Evgrafova, N.V. Pashenova* ..... 16

The development and expansion of the scope of biologically active products from raw material of natural origin.  
*A.I. Albulov, M.A. Frolova, A.Ya. Samuylenko, V.I. Eremets, E.V. Schmidt* ..... 18

Prospects for the creation of new forms of biopreparations on the basis of the Siberian biocontrol  
Trichoderma strains.  
*V.S. Sadykova, T.I. Gromovykh, A.V. Kurakov, A.N. Likhachev* ..... 20

Bioengineering technologies in stock-breeding: the state of researches in Russia.  
*V.P. Ryabykh, L.K. Ernst* ..... 22

Biotechnology as a national priority in Russia for short term and long term.  
*R.G. Vasilov* ..... 24

Problems of biotechnology education and training biotechnologists.  
*V.I. Shvets* ..... 26

Integrated use of biologically active metabolites of lacto- and bifidobacteria in the production of probiotics.  
*V.A. Neschislyayev, E.I. Molohova, L.P. Chistohina, Yu.V. Sorokina, I.V. Belova* ..... 29

The effectiveness of expression and environmental safety of the using of probiotic  
*Bacillus subtilis* 2335/ $\rho$ BMB105, a producer  $\alpha$ 2-human interferon.  
*T.Yu. Krylova, T.V. Kargatova, O.A. Mogilnaya* ..... 31

Biotechnological methods for modifying of the hydrobionts waste processing.  
*T.K. Kalenik, O.V. Tabakaeva* ..... 33

Potentially morphogenic androclinic calluses as an additional source of dihaploids.  
*D.Yu. Zaitsev* ..... 35

Synthesis of C-terminal analogs of Dermorfin and study of the pharmacokinetics and metabolism  
under intramuscular injection of these peptides.  
*P.S. Gromovykh, K.V. Shevchenko, L.A. Andreyeva, L.Yu. Alfeeva, V.P. Shevchenko,*  
*I.Yu. Nagaev, N.F. Myasoedov* ..... 37

Development of express method for species control of the strain-producers of multi-component probiotics.  
*A.G. Tochilina, N.A. Novikova, I.V. Solovieva, K.Ya. Sokolova, I.V. Belova, T.P. Ivanova* ..... 39

Creation of spring wheat haploids through the formation of polyembryoids.  
*O.A. Seldimirova* ..... 41

Influence of autolysis on digestion of the crayfish meat  
*L.V. Antipova, V.N. Gornostay* ..... 43

Delivery of actinomycins to DNA using hairpin oligonucleotides and caffeine. <i>M.A. Bitehtina, A.E. Kovalev, I.V. Savintsev, N.L. Vekshin</i> .....	45
Biological rehabilitation of soils polluted by oil, in conditions of the Southern Federal District. <i>E.V. Karaseva, A.A. Khudokormov, A.A. Samkov, S.G. Karasev, N.N. Volchenko</i> .....	47
The viability of embryos and transgene integration under combined introduction of the recombinant construction and restrictase into mouse zygotes pronuclei. <i>O.B. Fatkulina</i> .....	49
Development of a system of genetic transformation of the duckweed, <i>Lemna minor</i> . <i>S.E. Gaydukova, A.M. Kamionskaya</i> .....	51
Characteristics of amino acid composition in the deep-seated culture of mushrooms, hiratake ( <i>Pleurotus ostreatus</i> ) and sulfur-shelf ( <i>Laetiporus sulphureus</i> ). <i>O.V. Ufimtseva</i> .....	52
Producing of cloned cattle embryos from somatic cells using ripening in vitro oocytes as cytoplasts. <i>A.G. Loginov, K.V. Kiriynenko, I.G. Smetanina, L.V. Tatarinova, A.S. Algulyan, V.P. Ryabykh</i> .....	54
Hydrolytic enzymes from fish processing waste of Volga-Caspian Basin. <i>M.D. Mukatova, R.R. Uteushev, N.A. Kirichko</i> .....	56
Biotechnological producing of embryonic-suspensor mass and somatic embryos of Siberian larch ( <i>Larix sibirica</i> ) and Siberian pine ( <i>Pinus sibirica</i> ) in vitro culture. <i>I.N. Tretyakova, A.S. Belorussova, S.S. Savelyev, A.V. Lukina, M.E. Iziboldina</i> .....	58
Influence of anthropogenic pollutants on microbial populations in extensive systems. <i>E.V. Simonova</i> .....	60
Biotechnology as a basic approach in the production of immunobiological prophylactic drugs. <i>I.V. Nyn</i> .....	62
Ecological-biochemical studies of fish family Salmonidae grown in conditions of artificial reproduction. <i>S.I. Ovchinnikova, L.A. Pohlchenko, O.V. Mihnyuk, O.G. Krivenko, E.B. Smirnova, A.N. Matveyev, R.O. Igumnov</i> .....	64
Improvement of microbial products based on <i>Bacillus thuringiensis</i> . <i>T.I. Patyka, N.V. Kandybin</i> .....	66
Indicator of cell hydrophobicity in the selection of strains destructors under biostimulation in vitro. <i>A.A. Samkov, N.N. Volchenko, E.V. Karaseva</i> .....	68

### **Pages of history**

To 80 <sup>th</sup> anniversary from Paul Berg's birthday. The finish of molecular-genetic race of DNA era. <i>O.V. Vorobyeva, V.S. Vorobyev</i> .....	69
Anniversary and significant dates 2006.....	72

### **The chronicle**

Events of the second half-year 2006 .....	75
---	----

### **The information**

Forthcoming actions 2007.....	78
-------------------------------	----

<b>Rules for authors</b> .....	79
--------------------------------	----

## К читателям

В четвертом номере журнала за 2006 год публикуются материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова.

Съезд прошел 6–7 декабря 2006 г. в Пущино и собрал специалистов из 38 субъектов Российской Федерации, а также гостей из ближнего и дальнего зарубежья. Были проведены пленарные заседания, симпозиумы, школа-семинар «Объекты и методы современной биотехнологии». По традиции состоялся конкурс молодых ученых. Впервые на съезде Общества биотехнологов была организована презентация номеров журнала «Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова».

Для публикации в журнале были отобраны материалы съезда, отражающие наиболее актуальные направления современной биотехнологии и физико-химической биологии.

Вначале помещена статья активных авторов журнала из Пущино, посвященная дрожжевому биосинтезу янтарной кислоты из этанола.

Даны также сведения исторического и информационного характера с откликом на юбилейные и значимые события в научной жизни. В частности, опубликована специальная статья в честь 80-летия со дня рождения Пола Берга, первооткрывателя рекомбинантной ДНК, сообщено о присуждении Нобелевской премии по химии за 2006 год Роджеру Корнбергу. Приводятся итоговые документы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова.

**Главный редактор,  
президент Общества биотехнологов России,  
профессор Р.Г. ВАСИЛОВ**



## БИОСИНТЕЗ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ ДРОЖЖАМИ ИЗ ЭТИЛОВОГО СПИРТА

А.И. ЮСУПОВА, С.В. КАМЗОЛОВА, Т.Н. КОЗЫРЕВА, И.Г. МОРГУНОВ\*

*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,  
Пушино Московской области*

Исследована способность 32 штаммов дрожжей родов *Candida*, *Saccharomyces*, *Yarrowia*, *Debaromyces*, *Pichia* и *Torulopsis* экскретировать янтарную кислоту при росте на среде с этанолом. Штаммы *Candida brumptii* 5 и *Candida zeylanoides* 843 отобраны в качестве продуцентов янтарной кислоты. Оптимизированы состав среды и условия культивирования, обеспечивающие рост этих штаммов с максимальной скоростью в среде с этанолом. При ведении процесса ферментации в оптимальных условиях в аппаратах АНКУМ-2М на 96 ч роста *Candida brumptii* 5 экскретировали 6,74 г/л янтарной кислоты, а *Candida zeylanoides* 843 на 68 ч — 9,3 г/л янтарной кислоты; в значительных количествах в качестве побочного продукта накапливалась яблочная кислота. Дальнейшая работа будет направлена на получение мутантных штаммов *Candida brumptii* и *Candida zeylanoides*, не синтезирующих побочных продуктов.

*Ключевые слова:* янтарная кислота, этанол, *Candida brumptii*, *Candida zeylanoides*.

Янтарная кислота (ЯК) производится во всех промышленно развитых странах. В настоящее время потребность в янтарной кислоте в мире составляет 30 тыс. тонн в год [1] с годовым приростом производства 4% от существующего уровня.

ЯК является подкислителем, она используется в производстве безалкогольных напитков, которым придает фруктовые и ягодные запахи и вкус. Расширяется сфера применения ЯК в технических целях — на ее основе получают биodeградируемые полимеры, применяемые при производстве пищевых пленок и упаковок, средств личной гигиены, одноразовой посуды и т.д. Исследованиями научной школы М.Н. Кондрашовой (Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН) показано, что ЯК является сигнальным веществом, связывающим энергетическую и гормональную системы организма. Регуляторное действие ЯК проявляется даже при низких физиологических концентрациях. На основании этих исследований было предложено использовать ЯК в качестве природного активатора биологических функций и лечебного средства. Эффективность использования ЯК подтверждена широкой практикой применения более чем

десяти биологически активных добавок и нескольких лекарственных средств (Янтавит, Энерлит, Митомин, Лимонтар, Янтарь-кардио, Янтарь-Бэби, Мексидол, Пали-Пали и др.) [2]. До сих пор использование ЯК в качестве регуляторов обмена веществ и лекарственных средств тормозится ее недостаточным производством.

Во всем мире ЯК производят путем химического синтеза, исходным сырьем является малеиновый ангидрид. Процесс производства многостадийный, связан с использованием токсичных и взрывоопасных веществ. ЯК, которая используется в пищевой промышленности и медицине, не может быть произведена химическим синтезом [3], ее получают из природного янтаря. Спектр ЯК, полученной из природного янтаря, свидетельствует о присутствии трех конформеров. Кислота, содержащая три конформера, обладает всем набором свойств и идентична ЯК, которую производит наш организм. Напротив, ЯК, полученная химическим синтезом из малеинового ангидрида, содержит один конформер.

В связи с вышеизложенным в последние годы значительно возрос интерес к микробиологическому получению ЯК, которая благодаря своей высокой физиологической активности могла бы найти широкое применение в медицине. Наиболее изученными продуцентами ЯК считаются анаэробные бактерии *Anaerobiospirillum succiniciproducens*, *Actinobacillus succinogenes* и *Escherichia coli* [3, 4]. Единичные исследования прово-

\* Автор для переписки:

© 2008 г. Моргунов Игорь Григорьевич,  
к.б.н., заведующий лабораторией ИБФМ РАН,  
142290 Пушкино Московской обл.  
E-mail: morgunovs@rambler.ru



дились на грибах *Aspergillus niger*, *Penicillium viniferum* [5] и дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* [6].

Целью настоящего исследования являлось изучение возможности образования ЯК различными дрожжевыми организмами в среде с этанолом. Этанол как субстрат для микробиологического получения ЯК обладает рядом преимуществ по сравнению с другими источниками углерода. Во-первых, этанол может быть получен из возобновляемых источников сырья. Во-вторых, он практически не содержит вредных примесей, так как является чистым продуктом. Поэтому применение этанола в качестве сырья может упростить и удешевить процесс выделения и очистки целевого продукта. В-третьих, продукты, полученные на основе этанола, могут использоваться в пищевой и медицинской промышленности.

### Материалы и методы

Работу проводили с 32 штаммами дрожжей из родов *Candida*, *Saccharomyces*, *Yarrowia*, *Debaromyces*, *Pichia* и *Torulopsis* (табл. 1). Культуры были получены из музея лаборатории аэробного метаболизма микроорганизмов ИБФМ РАН. Культуры поддерживали при + 4 °С на сусло-агаре, пересевы проводили один раз в 3 месяца.

Для отбора продуцентов ЯК культивирование дрожжей проводили при 29 °С на качалке в среде с этанолом в витаминных пробирках с 5 мл среды следующего состава (г/л): этанол — 5,0;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  — 0,3;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  — 0,7;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  — 0,4;  $\text{NaCl}$  — 0,5;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 1,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  — 0,1; микроэлементы — по Буркгольдеру [7]. В качестве источника витаминов вносили тиамин — 0,5 мг/л, биотин — 0,001 мг/л, пантотенат — 0,5 мг/л, инозит — 10 мг/л, никотиновая кислота — 1,0 мг/л, пиридоксин — 0,5 мг/л.

Для исследования влияния этанола, азота и цинка дрожжи *Candida brumptii* 5 и *Candida zeylanoides* 843 выращивали при температуре 29 °С на качалке (180–200 об./мин) в колбах объемом 750 мл с 50 мл среды Ридера следующего состава (г/л):  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (концентрация указана в тексте);  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  — 0,7;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  — 0,4;  $\text{NaCl}$  — 0,5;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 1,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  — 0,1; микроэлементы — по Буркгольдеру [7]; тиамин — 0,5 мг/л. В качестве источника витаминов вносили тиамин — 0,5 мг/л, биотин — 0,001 мг/л, пантотенат — 0,5 мг/л, инозит — 10 мг/л, никотиновую кислоту — 1,0 мг/л, пиридоксин — 0,5 мг/л. Концентрация этанола, азота и цинка указана в тексте. Значение рН поддерживали на

уровне 5,0–6,0 подтитровкой 5–10% раствором NaOH. Время культивирования составляло 6 суток.

Культивирование штаммов *Candida brumptii* 5 и *Candida zeylanoides* 843 проводили в ферментере АНКУМ-2М объемом 10 л (исходный объем среды 5,0 л). Автоматически поддерживали температуру  $(29,0 \pm 0,1 \text{ } ^\circ\text{C})$ , концентрацию растворенного в среде кислорода (55–60% от насыщения), рН среды 5,0 (подтитровкой 20%-ным раствором KOH). Среда имела следующий состав (г/л):  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  — 3,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  — 1,4;  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  — 0,8;  $\text{NaCl}$  — 0,5 г;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  — 2,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  — 0,2; дрожжевой экстракт «Difco» — 0,5; удвоенный раствор микроэлементов по Буркгольдеру [7]; тиамин — 0,5 мг/л; биотин — 0,02 мг/л,  $\text{Zn}^{2+}$  — 0,3 мг/л. Добавление этанола проводили при увеличении  $\rho\text{O}_2$  на 5–10% или при снижении уровня титрования NaOH.

Для определения содержания янтарной кислоты и других органических кислот был использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC). Элюцию вели при следующих условиях: скорость элюции 1 мл/мин; температура 35 °С, в качестве элюэнта использовали фосфорную кислоту 20 мМ. В работе использовали HPLC хроматограф фирмы LKB (Швеция), колонку фирмы Элсико (Россия) с обращенной фазой Inertsil ODS-3 (250x4 мм). Регистрацию кислот проводили при длине волны 210 нм. Органические кислоты идентифицировали в соответствии со стандартами ЯК (Sigma, США).

Кроме того, содержание ЯК в культуральной жидкости определяли энзиматически с использованием диагностических наборов (Boehringer Mannheim, ФРГ).

Определение концентрации этанола проводили на хроматографе Chrom-5 (Чехословакия). В качестве газа-носителя использовали аргон, а в качестве сорбента Chromaton N-AW (0,160–0,200), пропитанный 15% Reoplex 400 (Чехословакия); размер хроматографической колонки 2 м x 3 мм. Температура термостата составляла 65 °С, детектора — 250 °С, камеры для впрыскивания — 200 °С.

Количество аммонийного азота в среде определяли с помощью ионометра фирмы Orion (США).

Удельную скорость роста культуры ( $\mu$ , ч<sup>-1</sup>) рассчитывали по формуле:

$$m = \frac{2,3 \cdot (\lg m_2 - \lg m_1)}{t_2 - t_1},$$

где  $m_1$  и  $m_2$  — вес сухой биомассы (г/л) в момент времени  $t_1$  и  $t_2$  (ч).

**Экскреция метаболитов при росте дрожжей родов**  
*Candida, Saccharomyces, Yarrowia, Debaromyces, Pichia и Torulopsis*

Штаммы	Биомас- са, г/л	ЯК	Ацетат	ЛК
<i>Torulopsis candida</i> 127	2,70	+	-	-
<i>T. candida</i> 420	1,70	+	-	-
<i>Candida olea</i> ВКМ Y-57	1,70	+	-	-
<i>C. rugosa</i> ВКМ Y-67	0,95	-	-	+
<i>C. brumptii</i> 5	1,30	+++	-	-
<i>C. membranofaciens</i> ВКМ Y-589	1,35	+	-	-
<i>C. utilis</i> 766	0,87	+	-	-
<i>C. utilis</i> 74	3,45	++	-	-
<i>C. valida</i> ВКМ Y-934	1,90	-	-	-
<i>C. mycoderma</i> ВКМ Y-240	2,05	+	-	-
<i>C. paludigena</i> ВКМ Y-2443	1,40	++	++	-
<i>C. zeylanoides</i> ВКМ Y-1543	0,67	+	-	-
<i>C. zeylanoides</i> 843	1,27	+++	-	-
<i>C. zeylanoides</i> ВКМ Y-6	0,55	++	++	-
<i>C. zeylanoides</i> ВКМ Y-2595	2,05	++	-	-
<i>C. zeylanoides</i> ВКМ Y-14	1,50	+	-	-
<i>C. guilliermondii</i> H-P-4	1,50	+	-	-
<i>C. guilliermondii</i> 916	1,50	+	-	-
<i>Pichia media</i> ВКМ Y-138	2,70	+	-	-
<i>P. inositovora</i> ВКМ Y-2404	1,30	++	-	-
<i>P. pelliculosa</i> 118	2,30	++	-	-
<i>P. besseyi</i> ВКМ Y-2084	1,60	++	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ВКМ Y-381	0,55	-	+++	-
<i>Debaromyces</i> ВКМ 2d	0,62	+	-	-
<i>Yarrowia lipolytica</i> 47	1,30	++	+	-
<i>Y. lipolytica</i> 695	1,30	++	-	-
<i>Y. lipolytica</i> 704	1,50	+	-	-
<i>Y. lipolytica</i> 374/1	1,47	+	-	-
<i>Y. lipolytica</i> 704	1,30	+	-	-
<i>Y. lipolytica</i> 12a	1,65	+	-	-
<i>Y. lipolytica</i> 96	0,85	+	-	-
<i>Y. lipolytica</i> 585	1,47	+	-	-

Количество метаболита: (+) – 0–0,1 г/л, (++) – 0,1–0,5 г/л, (+++) – выше 1,0 г/л,  
 (-) – накопление метаболита не происходило. ЛК – лимонная кислота

Выход кислоты от потребленного субстрата ( $Y_{\text{ЯК}}$ , г/г) определяли по уравнению:

$$Y = \frac{C}{S},$$

где  $C$  — общее количество кислоты в конце культивирования, г;

$S$  — количество потребленного этанола за период роста и кислотообразования, г.

Все использованные в работе реактивы имели квалификацию осч или хч. В статье приводятся результаты опытов, повторявшихся не менее трех-четыре раз, в каждой точке проводилось два-три параллельных измерения.

### Результаты и обсуждение

**Отбор продуцента.** Ранее при исследовании динамики процессов экскреции органических кислот дрожжами было показано, что в экспоненциальной фазе роста при наличии в среде всех необходимых элементов питания органические кислоты не выделяются из клетки. Их экскреция начинается только при замедлении роста культуры и происходит в результате истощения в среде лимитирующего компонента, но при избытке источника углерода [8].

Для отбора продуцентов ЯК исследуемые штаммы культивировали в витаминных пробирках в условиях лимитирования роста клеток азотом при избытке этанола. Содержание  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  составляло 0,1 г/л, которое обеспечивало нарастание биомассы не выше 2 г/л, так как при более высокой биомассе рост мог быть лимитирован не только азотом, но и недостаточным обеспечением клеток растворенным кислородом [9]. Качественный состав и количество выделяющихся в культуральную жидкость метаболитов определяли через 24 часа после перехода культуры в стационарную фазу.

Данные о накоплении промежуточных продуктов обмена в культуральной жидкости приведены в таблице 1. Все экскретируемые органические вещества являются продуктами метаболизма этанола и представлены уксусной, лимонной кислотой и ЯК. Способность к экскреции ЯК отмечается в 90,6% вариантов опытов, и только в 9,4% она либо отсутствовала в среде, либо накапливалась в ней в чрезвычайно низких количествах (ниже 0,1 г/г сухих клеток). Содержание ЯК варьировало от 0,01 до 1,0 г/л. 18 штаммов синтезировали ЯК в количестве до 0,1 г/л (+), 9 штаммов образуют ЯК в количестве от 0,1 до 0,5 г/л (++) и 2 штамма *C. zeylanoides* 843 и

*C. brumptii* 5 синтезируют ЯК в количестве более 0,5 г/л (+++). *C. zeylanoides* 843 и *C. brumptii* 5 были отобраны для дальнейших экспериментов как наиболее активные продуценты ЯК.

**Влияние условий культивирования на рост продуцентов.** В последующих экспериментах было изучено влияние этанола, азота и цинка на рост дрожжей *C. zeylanoides* и *C. brumptii*.

Использование этанола в качестве субстрата роста создает определенные трудности при культивировании микроорганизмов из-за токсичности этого соединения. Высокие концентрации этанола, как известно, влияют на функционирование ферментных систем клетки, тормозят рост и в некоторых случаях вызывают гибель микробной клетки. В связи с этим представляло интерес исследовать влияние концентрации этанола в среде на рост клеток и скорость потребления этанола клетками.

При исследовании влияния этанола на рост *C. zeylanoides* и *C. brumptii* (рис. 1) обнаружено замедление роста клеток при остаточной концентрации этанола выше 4 г/л для обоих штаммов. Пересчет данных о зависимости  $\mu_{\text{max}}$  у *C. brumptii* и *C. zeylanoides* от концентрации этанола по методу обратных величин приведен на рисунке 1. Прямая линия, соединяющая экспериментальные точки, отсекает на оси абсцисс величину  $K_i$ , равную 1,39 г/л для *C. brumptii* и 1,72 г/л для *C. zeylanoides*.  $K_i$  характеризует остаточную концентрацию этанола, при которой скорость роста клеток снижается в 2 раза. Линейная зависимость  $1/\mu_{\text{max}}$  от концентрации этанола свидетельствует о том, что торможение скорости роста *C. zeylanoides* и *C. brumptii* этанолом описывается уравнением неконкурентного торможения энзиматических реакций, то есть этанол, по-видимому, ингибирует одну энзиматическую реакцию, наиболее чувствительную к его действию. Ранее в опытах с *Yarrowia lipolytica* N 1 — продуцентом лимонной кислоты нами было установлено значение  $K_i$  для этанола 2,6 г/л [10]; следовательно, этанол характеризуется большей токсичностью для дрожжей *C. brumptii* и *C. zeylanoides*.

При исследовании потребности *C. zeylanoides* и *C. brumptii* в источнике азота было показано, что в условиях лимитирования роста клеток азотом линейная зависимость плотности биомассы от концентрации сульфата аммония в среде имеет следующий вид:

$$Y = 4,35x + 0,673,$$

где  $Y$  — биомасса, г/л;  $x$  — концентрация сульфата аммония, г/л.

При культивировании дрожжей на этаноле особую важность приобретает содержание ионов цинка, который

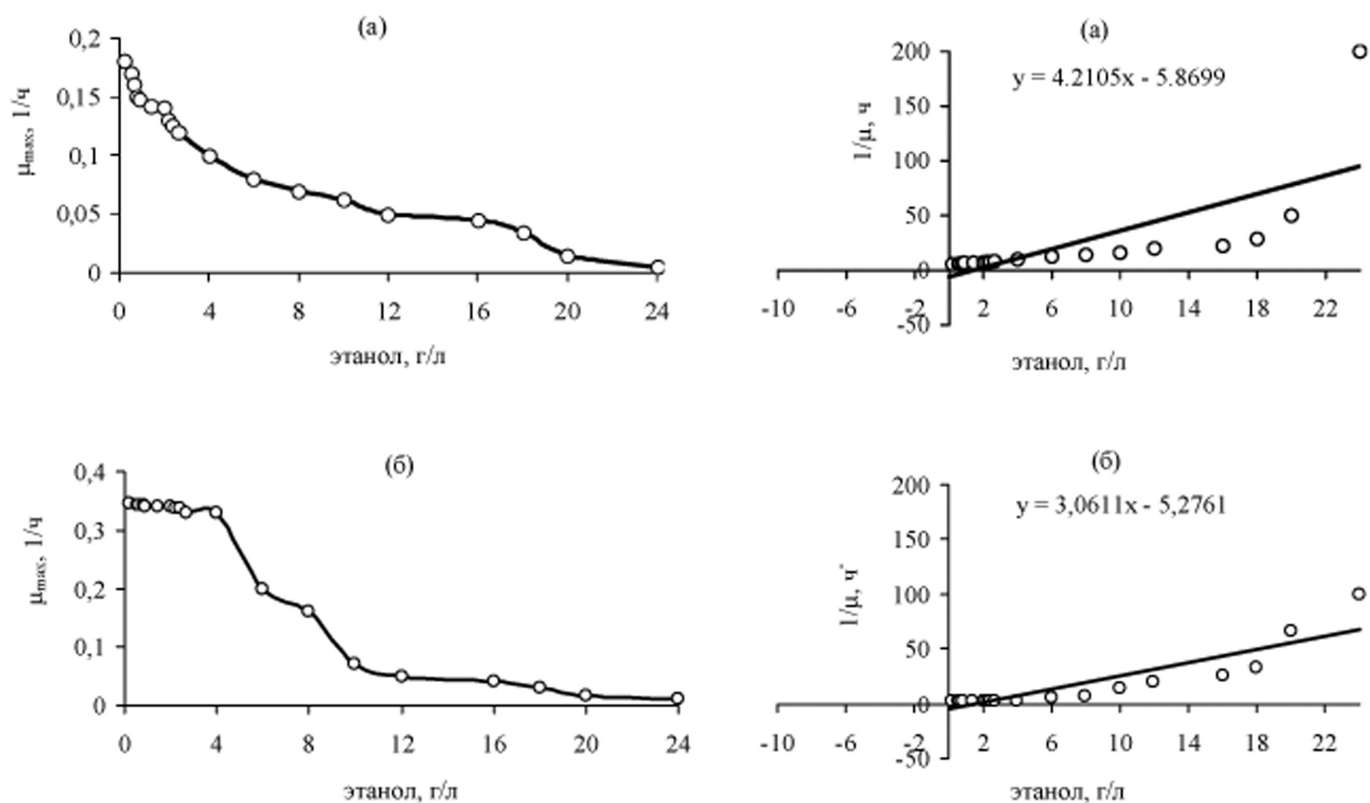


Рис. 1. Зависимость  $\mu_{max}$  и  $1/\mu_{max}$  от концентрации этанола у *C. brumptii* (а) и *C. zeylanoides* (б)

входит в активный центр дрожжевой алкогольдегидрогеназы. Ранее нами было установлено, что концентрация цинка  $Zn^{2+}$  0,2 мг/л является концентрацией, лимитирующей рост дрожжей *Y. lipolytica*. При исследовании влияния концентрации  $Zn^{2+}$  в диапазоне от 0,01 до 10 мг/л показано, что содержание  $Zn^{2+}$  от 0,3 до 1,2 мг/л наиболее благоприятно для роста дрожжей *C. zeylanoides* и *C. brumptii*.

После отработки условий роста в колбах опыты по изучению кислотообразующей активности у *C. zeylanoides* и *C. brumptii* осуществляли методом глубинного периодического культивирования в 10-литровом ферментере АНКУМ-2М с рабочим объемом 5 л, оборудованном мешалкой и аппаратом для измерения и регистрации температуры, рН и  $pO_2$ .

Результаты опытов представлены на рисунке 2. Как видно из рисунка 2, на кривых роста *C. zeylanoides* и *C. brumptii* хорошо выражены следующие фазы роста: лаг-фаза (6 часов), логарифмическая фаза (до 32 часов) (когда рост клеток пропорционален потреблению азота и этанола), фаза замедленного роста и стационарная фаза. На основании данных о накоплении биомассы были рассчитаны максимальные удельные скорости роста ( $\mu_{max}$ ) на прямолинейном отрезке кривой роста, равные

0,160 ч<sup>-1</sup> и 0,180 ч<sup>-1</sup> для *C. brumptii* и *C. zeylanoides*, соответственно, и которые сравнимы со значениями, полученными для *Y. lipolytica* — продуцента лимонной кислоты в среде с этанолом [11].

Интенсивный синтез ЯК происходил в период замедления роста и в начале стационарной фазы. На 96 ч культивирования штамм *C. brumptii* 5 накапливал 6,74 г/л ЯК, а штамм *C. zeylanoides* 843 на 68 ч культивирования накапливали 9,3 г/л ЯК. Анализ органических кислот в культуральной жидкости показал, что среди органических кислот преобладали ЯК и яблочная кислота, а изолимонная и  $\alpha$ -кетоглутаровая кислоты присутствовали в незначительных количествах, что позволяет предположить образование ЯК через глиоксилатный цикл. Выход ЯК от потребленного этанола УЯК составлял 0,45 г/г (или 45%) для *C. brumptii* 5 и 0,57 г/г (или 57%) — для *C. zeylanoides*.

В заключение следует отметить, что известны только два сообщения о способности дрожжей — облигатных аэробов — синтезировать ЯК. В статье японских ученых используется специально селекционированный штамм *C. brumptii* IFO 0731, который в среде с n-алканами на 9 суток накапливал 23,6 г/л ЯК [12]. Имеются данные о способности *Candida zeylanoides* синтезировать

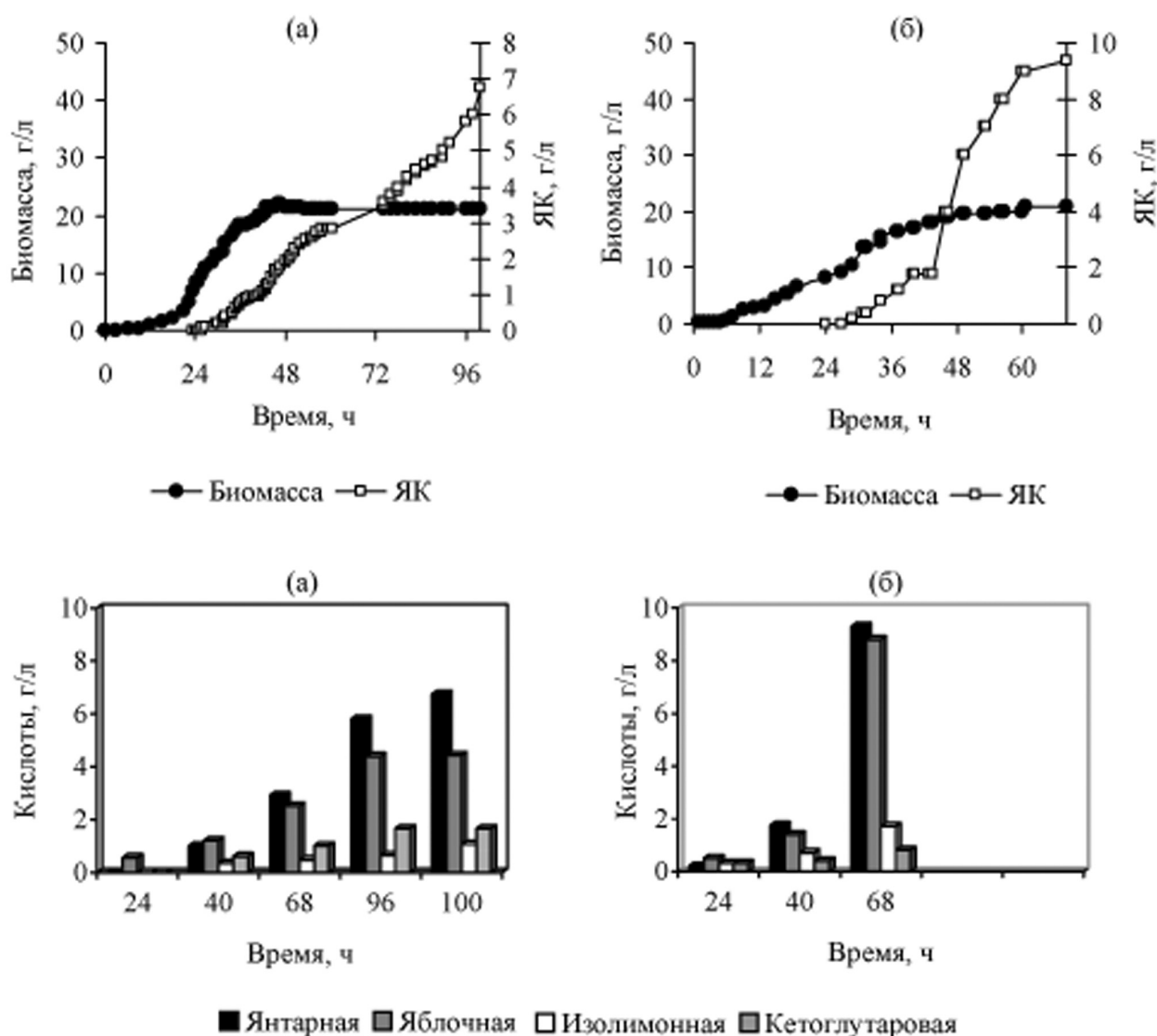


Рис.2. Динамика накопления биомассы, янтарной кислоты и других органических кислот у дрожжей *C. brumptii* 5 (а) и *C. zeylanoides* 843 (б)

от 2,0 до 3,0 г/л ЯК из этанола [8]. Однако обе работы не имели продолжения.

Таким образом, в настоящем исследовании было впервые установлено, что дрожжевые организмы обладают способностью образовывать ЯК в среде с этанолом в качестве источника углерода. На основании скрининга дрожжевых организмов в качестве активных продуцентов ЯК отобраны штаммы *C. brumptii* 5 и *C. zeylanoides* 843. Выяснены условия культивирования, обеспечивающие рост этих штаммов с максимальной скоростью в среде с этанолом и образование ЯК. Дальнейшая работа будет направлена на получение мутантных штаммов с преимущественным биосинтезом ЯК, а также оптимизацию условий культивирования и состава среды.

## Литература

1. <http://in-pharmatechnologist.com/news/>.
2. Кондрашова М.Н., Захарченко М.В., Самохвалов В.А., Шихлярова А.И., Барсукова Л.П., Марьяновская Г.Я., Гаркави Л.М. Сигнальное действие янтарной кислоты и ее лечебное применение в малых дозах / В сборнике «Регуляторы энергетического обмена» (Ред. – В.А. Хазанов) XII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». – М., 2005. – С. 8–16.
3. Zeikus J.G., Jain M.K., Elankovan P. Biotechnology of succinic acid production and markets for derived industrial products // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1999. – Vol. 51. – P. 542–552.



4. Song H., Lee S.Y. Production of succinic acid by bacterial fermentation // *Enzyme and Microbial Technology*. – 2006. – Vol. 39. – P. 352–361.
5. Gallmetzer M., Meraner J., Burgstaller W. Succinate synthesis and excretion by *Penicillium simplicissimum* under aerobic and anaerobic condition // *FEMS Microbiology Letters*. – 2002. – Vol. 210. – P. 221–225.
6. Arikawa Y., Kuroyanagi T., Shimosaka M., Muratsubaki H., Enomoto K., Kodaira R., Okazaki M. Effect of gene descriptions of TCA cycle on the production of succinic acid in *Saccharomyces cerevisiae* // *J. Bioscience Bioengineering*. – 1999. – Vol. 87. – P. 28–36.
7. Burkholder P.R., McVeigh J., Moyer D. Studies on some growth factors of yeasts // *J. Bacteriol.* – 1944. – Vol. 48. – P. 385–391.
8. Ермакова И.Т., Мандева Р.Д. Экскреция метаболитов дрожжами родов *Torulopsis*, *Pichia*, *Debaromyces* и *Hansenula* при лимитировании их роста источниками N, P, S или Mg // *Микробиология*. – 1981. – № 11. – С. 25–27.
9. Лозинов А.Б., Матяшова Р.Н., Шишканова Н.В., Предтеченский С.А. Влияние кислорода на рост и обмен некоторых дрожжевых организмов // *Изв. Агн СССР, сер. Биол.* – 1974. – № 2. – С. 179–188.
10. Камзолова С.В., Чистякова Т.И., Дедюхина Э.Г., Шишканова Н.В., Финогенова Т.В. // *Микробиология*. – 1996. – Т. 65. – № 2. – С. 202–207.
11. Камзолова С.В., Чистякова Т.И., Дедюхина Э.Г., Шишканова Н.В., Финогенова Т.В. Исследование влияния концентрации этанола на максимальную удельную скорость роста и состав биомассы мутантного штамма *Yarrowia lipolytica* // *Бюлл. эксп. биол. и мед.* – 1995. – Т. 119. – № 11. – С. 492–496.
12. Sato M., Nakahara T., Yamada K. Fermentative production of succinic acid from n-paraffin // *Agr. Biol. Chem.* – 1972. – Vol 36. – N 11. – P. 1969–1974.

## YEAST BIOSYNTHESIS OF SUCCINIC ACID FROM ETHYL ALCOHOL

A.I. YUSUPOVA, S.V. KAMZOLOVA, T.N. KOZYREVA, I.G. MORGUNOV.

*G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms RAS,  
Pushchino Moscow region*

We investigate the ability of 32 strains of yeast genus *Candida*, *Saccharomyces*, *Yarrowia*, *Debaromyces*, *Pichia*, and *Torulopsis* at the growth in the medium with ethanol to excrete succinic acid. Strains of *Candida brumptii* 5 and *Candida zeylanoides* 843 were selected as producers of succinic acid. The environment composition and the conditions of cultivation for the growth of these strains with a maximum speed in a medium with ethanol were optimized. When fermentation process under optimum conditions in the apparatus of ANKUM-2M was realized at 96 h of growth *Candida brumptii* 5 6.74 g/l of succinic acid were excreted. At 68 h of growth *Candida zeylanoides* 843 9.3 g/l succinic acid were excreted. By-product as a malic acid was accumulated in large quantities. Future work will be focused on obtaining of *Candida brumptii* and *Candida zeylanoides* mutant strains non synthesizing by-products.

*Keywords:* succinic acid, ethanol, *Candida brumptii*, *Candida zeylanoides*.

## СИСТЕМНЫЙ ПОДХОД В БИОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССИНГА ПРОТЕОМА ЖИВЫХ СИСТЕМ

Т.С. ТРОПЫНИНА\*, Э.А. ИВАНОВА, Г.Х. ВАФИНА, Р.С. ИВАНОВ,  
Т.Р. ЯСАКОВ, Т.В. МАРКУШЕВА

Институт биологии Уфимского научного центра РАН,  
Уфа

В работе приводится анализ экспериментальных данных протеолитического процессинга в клетках про- и эукариот в ходе их развития. Системный подход в биохимических исследованиях заключается в том, чтобы рассматривать организм как целостную систему в её развитии.

В иерархии структурных уровней в биологических системах биохимии исследуют нижние уровни. Важность изучения структурных уровней, соответствующих надмолекулярным комплексам, состоит в том, что они выполняют роль стандартных блоков, имеющие элементарные функции и регулируемых по базовым регуляторным механизмам (Курганов Б.И., Любарев А.Е., 1991). Согласно представлениям А.М. Уголева с соавторами (1990), одним из стандартных функциональных блоков является ферментативный. Протеолитический процессинг, происходящий в структурах клетки, четко отражает одну из особенностей динамической организации живой системы.

В связи с этим возникает необходимость рассмотрения его в рамках системного подхода. В настоящее время широкое распространение приобретает концепция биохимической универсальности белковой биорегуляции. Первоначальное расщепление белка несет в себе определенную специфичность.

Протеолитическая система — это не набор хаотических реакций, а сложная, но высокоупорядоченная система со специфическим для каждой ткани набором протеолитических ферментов. Филогенетически она древнее гормональной или нервной систем, ответственных за функционирование организма в целом. Ограниченный

протеолиз можно связать и с образованием активных пептидов на определенных этапах онтогенеза клетки. В постгеномных технологиях возникло новое направление — пептидомика (Карелин А.А., Иванов В.Т., 2005). Есть мнение, что информация внутри клетки может сообщаться морфогенами — веществами, по-видимому, пептидной природы, которые способны активировать или репрессировать гены (Волькенштейн М.В., 1985).

Целью данной работы было изучение активности триптаз (расщепляющих Арг-Х, Лиз-Х связи) и их ингибиторов в надмолекулярных структурах про- и эукариотических клеток (включая геномные структуры) при их развитии *in vivo*.

В качестве объекта исследований были использованы штаммы *E. coli* 5a (плазмидный), JC-158 (бесплазмидный), а также клеточные ядра соматических (зародышевых) и репродуктивных клеток пшеницы *Triticum aestivum* L. В определенные периоды роста штаммов *E. coli* и реорганизации клеточных ядер проводили фракционирование их надмолекулярных структур с позиции сохранения целостности организма и клеточных органоидов.

Фракционирование осуществляли на основе разрыва слабых и сильных взаимодействий надмолекулярных структур с использованием ступенчатого повышения солевого градиента. Таким способом были выделены соответственно: из клеток *E. coli* — цитоплазма, надмолекулярные структуры, непрочно- и прочносвязанные с клеточным каркасом, и сам клеточный каркас; из клеточных ядер эукариот — нуклеоплазма, хроматин, непрочно- и прочносвязанный с ядерным матриксом, и сам ядерный матрикс.

Во всех надмолекулярных структурах количественно определяли белок, гексозы, нуклеиновые кислоты, протеолитическую активность триптаз и их ингибиторов, а также методом аффинной хроматографии выделяли

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Тропынина Т.С.,

Институт биологии Уфимского научного центра РАН,

Уфа



---

триптазы и ингибитор трипсина (Иванова Э.А., Вафина Г.Х., 1997, 1998).

Аффинная хроматография позволила выделить «трипсиноподобные протеолитические» и «ингибитор-трипсиновые» комплексы практически из всех вышеперечисленных надмолекулярных структур штамма 5а, главным образом, в первые сутки его культивирования; в то время как из штамма JS-158 эти комплексы выделяются также в первые сутки, но только из фракции цитоплазмы.

В соматических клетках «трипсиноподобные протеолитические» и «ингибитор-трипсиновые» комплексы четко выявляются только в ядерном матриксе в период активного роста клеток путем растяжения.

В условиях холодового стресса в репродуктивных клетках, чувствительных к переключению морфогенетических подпрограмм развития, отмечается высокое проявление триптазной активности в нуклеоплазме, где

имеются шапероны, возможно, это связано с формированием адаптивных механизмов, направленных на новую ориентацию метаболических процессов.

Выявленные некоторые особенности активации хроматина, динамики изменения активности триптаз, формирования трипсиноподобных и их ингибиторных комплексов ждут своего развития не только в опытах по изучению молекулярно-генетических основ онтогенеза, процесса включения индивидуальных генов, но также являются дополнительной информацией, необходимой для построения компьютерных моделей организации в управляющие генные и эпигенные сети. Как известно, из анализа природы живых самоорганизующихся систем рождаются многие биотехнологические разработки.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## БИОИНДИКАЦИЯ И БИОРЕМЕДИАЦИЯ ПОЧВ НАРУШЕННЫХ ЛЕСНЫХ ЭКОСИСТЕМ СИБИРИ

Н.Д. СОРОКИН\*, И.Д. ГРОДНИЦКАЯ, С.Ю. ЕВГРАФОВА, Н.В. ПАШЕНОВА

*Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН,  
Красноярск*

Хозяйственная деятельность человека неизбежно связана с увеличением антропогенной (техногенной) нагрузки на лесные экосистемы. Промышленное освоение сибирских территорий поставило вопрос о создании новых методов оценки нарушенности и восстановления таежных биоценозов.

Почвенные микробные комплексы в силу большого разнообразия биохимических функций и высокой чувствительности к изменениям среды перспективны в биоиндикации возрастающих антропогенных нарушений экосистем и последующей их биоремедиации.

В ходе многолетних исследований микробиологических характеристик криогенных почв лиственничников Эвенкии и длительно-сезонно-мерзлотных почв южной тайги Средней Сибири выявлен ряд показателей, перспективных для оценки состояния экосистем:

- численность эколого-трофических групп микроорганизмов (ЭКТГМ);
- коэффициент микробиологической активности ( $K_{ма}$  — отношение количества разрушенной в почве клетчатки и желатины к биомассе микроорганизмов);
- коэффициент резерва ( $R$  — отношение статистически достоверных минимальных значений численности микроорганизмов к их средней величине за определенный интервал времени);
- коэффициент флуктуации ( $CF$  — отношение суммы квадратов амплитуд колебаний численности микроорганизмов к периоду колебаний и среднеарифметической);
- метаболический коэффициент ( $qCO_2$  — отношение скорости дыхания микроорганизмов к их биомассе).

Построена шкала диапазонов численности ЭКТГМ в ненарушенных почвах, которая является нормой-мерой состояния почвы (Сорокин, 1990). Установлено, что до тех пор, пока антропогенное воздействие не меняет соотношение ЭКТГМ можно говорить об устойчивости почвенной экосистемы.

Показано, что  $K_{ма}$  в почвах северной тайги в 2,5–3 раза ниже, чем в почвах южной тайги Сибири, что соответствует общему представлению о процессах деструкции и трансформации органического вещества в сравниваемых экосистемах.

На объектах Центральной Эвенкии, подверженных влиянию низовых пожаров, установлено, что по шкале диапазонов численности ЭКТГМ, обогащенность почв контрольных участков (не пройденных огнем) оценивается в 2–3 балла.

Коэффициент микробиологической активности колеблется в пределах 1,5–1,8. При пожарах средней интенсивности численность микроорганизмов уменьшается на 1–2 балла,  $K_{ма}$  снижается до 0,8–1,1. Величины коэффициентов резерва ( $R$ ) и флуктуации численности микроорганизмов ( $CF$ ) в почвах, нарушенных огнем, также уменьшаются в 2–4 раза по сравнению с контролем.

По результатам исследований в зоне промышленных выбросов Красноярского алюминиевого завода выявлено, что бактериальная микрофлора чувствительна к загрязнению почв фтором, а микроскопические грибы устойчивы. Таким образом, показатель отношения бактерии/грибы наиболее адекватно отражает степень загрязнения почвы в природных условиях.

При индикации влияния лесных пожаров и рубок леса адекватными микробиологическими показателями являются шкала диапазонов численности ЭКТГМ, комплекс доминантных видов,  $K_{ма}$ , коэффициент резерва ( $R$ ), коэффициент флуктуации ( $CF$ ), эмиссия  $CO_2$  и метаболический коэффициент ( $qCO_2$ ). Степень техноген-

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Сорокин Н.Д.,  
Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН,  
Красноярск

---

ных загрязнений достоверно оценивается по последним четырем показателям и реакции интродуцированной в почву популяции *Bacillus subtilis*.

В экспериментах по биоремедиации нарушенных микробоценозов почв лесопитомников исследовали метод биоаугментации, предполагающий внесение в загрязненную почву специализированных микроорганизмов, способных изменить почвенную микробиоту, и тем самым, улучшить фитосанитарное состояние почв.

Опытным путем было установлено, что наиболее эффективными микроорганизмами-интродуцентами для санации серых почв южно-таежной зоны Сибири

являются микровицеты из р. *Trichoderma* и бактерии из р. *Pseudomonas*.

На основании обобщения экспериментального материала разработана комплексная схема микробиологических откликов антропогенно нарушенных почв лесных экосистем и проведено их нормирование по микробиологическим тестам.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## РАЗРАБОТКА И РАСШИРЕНИЕ СФЕРЫ ПРИМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ СЫРЬЯ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

А.И. АЛБУЛОВ\*, М.А. ФРОЛОВА, А.Я. САМУЙЛЕНКО,  
В.И. ЕРЕМЕЦ, Е.В. ШМИДТ

*Всероссийский научно-исследовательский институт  
биологической промышленности, Московская область*

В настоящее время одним из перспективных направлений в биотехнологии является выделение биологически активных веществ из нетрадиционных видов сырья и получение препаратов на их основе для применения в различных областях народного хозяйства. В связи с этим активно ведутся исследования в области изыскания и переработки новых сырьевых ресурсов.

Использование накопленного производственного и экспериментального опыта в Всероссийском научно-исследовательском институте биологической промышленности (ВНИТИБП) и его производственном подразделении ЗАО «Биопрогресс» позволило создать и внедрить несколько технологий промышленного производства биопрепаратов.

Значительный интерес представляют нерыбные продукты моря, содержащие широкий спектр биологически активных веществ. Одним из наиболее распространенных в природе органических соединений является полисахарид хитозан. Широкие возможности использования продуктов химического превращения хитозана в сочетании с нетоксичностью и биodeградируемостью делают его весьма ценным веществом для практического применения.

Свойства хитозана в значительной мере зависят от его молекулярной массы и степени деацетилирования. Совокупность физико-химических свойств высокомолекулярного хитозана дают возможность применения его в качестве структурообразователя, консерванта и эмульгатора в производстве пищевых продуктов; высокие

сорбционные свойства полимера позволили разработать на его основе лечебно-профилактические препараты для лиц, получивших отравления радионуклидами и тяжелыми металлами, а также предложить хитозан в качестве адьюванта для производства вакцин.

Низкомолекулярный хитозан отличается от нативного достаточно узким молекулярно-массовым распределением, его фракции обладают четко выраженными специфическими свойствами. На базе ВНИТИБП-ЗАО «Биопрогресс» отработана технология получения водорастворимого низкомолекулярного хитозана с применением ферментов, что позволяет до минимума сократить использование различных реагентов, избежать химической модификации полисахарида, плавно регулировать молекулярную массу полученных полимеров от исходной до 8–10 кДа.

Низкомолекулярный хитозан обладает высокой адгезивной и пленкообразующей активностью, оказывает стимулирующее действие на кишечную микрофлору, проникает в кровь, с чем связана его иммуностимулирующая и адаптогенная активность.

Как показали проведенные исследования, низкомолекулярный хитозан может быть также успешно применен в составе пробиотиков и кормовых добавок (например, в качестве сорбента в составе препаратов «Лактин-К» и «Пробиоцел», предназначенных для нормализации деятельности микробиоценозов пищеварительного тракта животных).

Весьма перспективным является ветеринарно-биологический аспект применения хитозана. Препараты на его основе позволяют значительно сократить применение антибиотиков и сульфаниламидов, которые обладают кумулятивным эффектом, что крайне нежелательно для продуктивных сельскохозяйственных животных.

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Албулов А.И.,  
141142 Московская обл.,  
Щелковский район, п/о Кашинцево,  
ВНИТИБП

---

Во ВНИТИБП-ЗАО «Биопрогресс» создана технология получения коллагеназы из печени краба без применения органических растворителей. Она была успешно испытана и применена на ряде биопредприятий страны для дезагрегации культур клеток в вакцинном производстве. Результаты, полученные при испытании коллагеназы на базе Воронежской технологической академии и Московского университета дружбы народов. Свидетельствовали об эффективности ее применения для повышения технологических и физико-химических свойств мяса.

Другим направлением научно-технологических исследований является получение гидролизатов белка для применения в диетологии в качестве пищевых добавок, в составе рационов животных, а также питательных сред для культивирования клеток и тканей.

Важность проведения разработок в этой области связана с возможностью реализации путем ферментативного гидролиза большого количества производственных белковых отходов, утилизация которых представляет

угрозу экологического загрязнения окружающей среды. Совместно с ООО «Интар-Биотех» отработана технология изготовления гидролизата коллагена из кожевенного сырья, который служит источником свободных аминокислот, участвующих в построении белка. Это актуально для спортсменов и для лиц с повышенной физической нагрузкой.

Таким образом, научно-производственным комплексом ВНИТИБП-ЗАО «Биопрогресс» разработан и организован выпуск различных форм хитозана пищевого и ветеринарного назначения. его солевых и низкомолекулярных форм и биологически активных добавок на его основе («Хитан», «Полихит» и «Фитохитодез»), а также ряда других биологически активных препаратов из сырья природного происхождения.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ФОРМ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ СИБИРСКИХ БИОКОНТРОЛЬНЫХ ШТАММОВ *TRICHODERMA*

В.С. САДЫКОВА<sup>1\*</sup>, Т.И. ГРОМОВЫХ<sup>1</sup>, А.В. КУРАКОВ<sup>2</sup>, А.Н. ЛИХАЧЕВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный технологический университет, Красноярск;

<sup>2</sup> Московский государственный университет, Москва

Современное состояние исследований, направленных на ограничение развития и вредоносности фитопатогенных организмов в лесных питомниках Средней Сибири с использованием европейских «музейных» штаммов рода *Trichoderma*, характеризуются большим числом частных, как весьма обнадеживающих результатов, так и рядом противоречивых данных, что затрудняет проведение обобщения об их эффективности.

Успех использования биологического метода защиты растений зависит не только от подбора высокоэффективного штамма рода *Trichoderma*, но и в равной мере от возможности получения биопрепарата на его основе.

Использование в качестве продуцентов биофунгицидов сибирских штаммов грибов и разработка на их основе экологически чистых безотходных технологий является новым направлением в биотехнологии.

Целью данной работы была оценка биологической активности коллекции моноспоровых сибирских штаммов *Trichoderma* в отношении фитопатогенов рода *Fusarium*, вызывающим полегание сеянцев хвойных в Средней Сибири и подбор растительных субстратов для твердофазного культивирования продуцентов биопрепаратов.

Проведенные исследования моноспоровых клонов 15 природных изолятов, выделенных из различных географических регионов Средней Сибири, показали высокую гетерогенность по культурально-морфологическим признакам, скорости роста и интенсивности спороношения, что имеет большое значение при отборе штаммов-продуцентов для производства биопрепаратов.

На основании перечисленных признаков, все изоляты вида разделялись на четыре культурально-морфологических группы. Вегетативная совместимость изолятов коррелирует с этими группами.

Изучаемые сибирские штаммы *T. asperellum* проявляли гетерогенность по антибиотической активности в отношении видов рода *Fusarium*. Максимальную антибиотическую активность проявляли клоны второй группы, которые оказались наиболее продуктивными и сохраняли свои первоначальные признаки в нескольких пассажах.

Изоляты этой группы проявляли реакции несовместимости с клонами, относящимися к другим группам. На основании вышеперечисленных данных были отобраны четыре наиболее антагонистически активных и стабильных моноспоровых штамма: МГ-6, К-12, 01-00, 10-99/5.

Для подбора дешевых и экологически чистых субстратов была проведена оценка способности роста на следующих субстратах: кора ели, твердый остаток коры ели после углекислотной экстракции, твердый остаток коры ели после углекислотной и спиртовой экстракции, твердый остаток коры ели после углекислотной и водной экстракции, кору лиственницы, одубина коры лиственницы.

Для испытаний отобранных штаммов грибов рода *Trichoderma* были наработаны опытные партии биопрепаратов, полученные путем твердофазной ферментации на коре пихты и на коре ели после углекислотной экстракции штамма МГ 97/6 *Trichoderma asperellum*, с титром  $3 \cdot 10^8$  спор в 1 грамме препарата. В состав комплексного препарата на коре пихты вошли штаммы МГ-97/6 *Trichoderma asperellum*, М 99/5 *Trichoderma harzianum*, К-12 *Trichoderma asperellum*, с титром  $2,5 \cdot 10^8$  спор в 1 г препарата.

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Садыкова В.С.,  
Сибирский государственный  
технологический университет,  
Красноярск

---

Результаты исследований показали, что при обработке семян и посевов *Picea obovata* L. биологическими препаратами, увеличивается выход здоровых сеянцев в сравнении с контролем: при внесении чистого спорового биопрепарата триходермин-с в 1,6 раза; триходермина, полученного на коре лиственницы — в 4 раза; триходермина, полученного на коре ели после углекислотной экстракции — в 3,4 раза.

Наибольший выход сеянцев получен в варианте с использованием комплексного препарата на основе 4 штаммов М 99/5 *Trichoderma harzianum*, МГ-97/6, К-12 и 01-00 *Trichoderma asperellum*. Выход сеянцев в этом варианте в 8,5 раза выше, чем в контрольном варианте.

Полученные данные наглядно свидетельствуют о том, что применение биопрепаратов, полученных на растительных субстратах, более эффективно по сравнению с использованием споровых биопрепаратов. Вероятнее всего, это связано с тем, что растительные субстраты являются источником дополнительных питательных веществ и стимулируют еще более интенсивное развитие грибов рода *Trichoderma* в почве ризосферы сеянцев *Picea obovata* L.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*



## БИОИНЖЕНЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ: СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ В РОССИИ

В.П. РЯБЫХ<sup>1\*</sup>, Л.К.ЭРНСТ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ВНИИ физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных РАСХН, Боровск;

<sup>2</sup> Российская академия сельскохозяйственных наук, Москва

Одним из основных факторов, необходимых для увеличения производства высококачественных продуктов животноводства, является повышение генетического потенциала сельскохозяйственных животных. Однако повышение генетического потенциала животных методами классической селекции — очень длительный процесс.

Новые биоинженерные технологии (трансгенез, клонирование и др.) позволяют за одно поколение жизни животных достичь большего генетического совершенствования, чем методами классической селекции за десятилетия.

В настоящее время исследования по получению трансгенных сельскохозяйственных животных ведутся в следующих направлениях: а) повышение продуктивности; б) повышение устойчивости к инфекционным заболеваниям; в) продукция биологически активных веществ человека с молоком животных; г) повышение качества продукции животных; д) получение трансгенных животных — доноров органов и тканей для ксенотрансплантации их человеку.

### 1. Повышение продуктивности животных.

Проведены всесторонние исследования физиолого-биохимических и генетических процессов у трансгенных свиней с интегрированным геном рилизинг-гормона соматотропного гормона (РГ-СТГ) человека под металлотионеиновым промотором (ВГНИИЖ, ВНИИФБиП).

В настоящее время на основе результатов этих исследований сотрудниками отделов биотехнологии ВГНИИЖ и ВНИИФБиП проводятся совместные работы по получению трансгенных свиней с интеграцией в их геном двух генов соматотропного каскада — РГ-

СТГ и инсулиноподобного фактора роста I, который является конечным звеном соматотропного каскада. Предполагается, что такое сочетание генов позволит получить определенный желательный фенотипический эффект повышения продуктивности.

2. *Повышение устойчивости сельскохозяйственных животных к инфекционным заболеваниям.* В начале 90-х годов XX века во ВГНИИЖ в качестве модельных животных были получены кролики, экспрессирующие асРНК против аденовируса h5. Во ВНИИФБиП в результате хирургического осеменения получены свиньи трансгенные по Мх-гену мыши. В настоящее время исследования в этих направлениях приостановлены.

3. *Получение трансгенных животных, продуцирующих с молоком биологически активные вещества (БАВ) лекарственного назначения,* считается в настоящее время одним из наиболее быстро окупаемых направлений технологии трансгенеза.

Эти животные-суперпродуценты могут стать высокопродуктивными экологически чистыми биофабриками по производству человеческих биологически активных веществ фармакологического назначения, по несравненно низкой себестоимости.

Двумя группами исследователей РАСХН получены трансгенные кролики с интегрированным геном Г-КСФ человека (Биотехцентр и ВНИИФБиП). Во ВНИИФБиП созданы два вида генно-инженерных конструкций, включающих в себя нуклеотидные последовательности гена лактоферрина человека под промоторами генов разных белков молока. Проведены их испытания, получены две линии трансгенных мышей. Начаты исследования по изучению экспрессии трансгена у этих мышей.

4. *Повышение качества продукции животных (молока, шерсти и др.).* В 90-х годах получены овцы, экспрессирующие в молоко прохимозин и (ВГНИИЖ).

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Рябых В.П.,

ВНИИ физиологии, биохимии и питания

сельскохозяйственных животных РАСХН, Боровск

В результате совместных исследований ВНИИФБиП, ВГНИИЖ, ВНИИИСБ и Ставропольского государственного аграрного университета на базе этого университета в 2006 году получены трансгенные овцы с интегрированной в их геном генно-инженерной конструкцией, включающей в себя нуклеотидные последовательности гена спидроина паука под промотором гена кератина овцы. Первичный анализ показал, что прочность шерсти на разрыв у трансгенных овец на 60% выше, по сравнению с контролем. При этом отмечено снижение толщины волокна.

Во ВНИИФБиП на основе использования конструкций, включающих в себя ген лактоферрина, ведутся работы по изменению состава коровьего молока с целью приближения его к составу женского молока и использования для детского питания.

*5. Получение трансгенных животных — доноров органов и тканей для ксенотрансплантации их человеку.* В результате совместной работы сотрудников ВГНИИЖ и ВНИИФБиП получены трансгенные свиньи с интегрированными генными конструкциями, содержащими нуклеотидные последовательности гена НЛА-Е и гена  $\beta_2$ -микроглобулина человека, которые, по современным представлениям, должны предотвращать сверхострое отторжение органов и тканей при ксенотрансплантации их человеку.

Второй биоинженерной технологией в животноводстве считается технология клонирования путем трансплантации ядер клеток в энуклеированные яйцеклетки.

В настоящее время, судя по публикациям, исследования по разработке технологии клонирования животных на основе использования в качестве кариопластов ядер соматических клеток, получаемых от взрослых животных, проводятся в трех институтах (ВНИИФБиП, НИИПЗК (РАСХН) и ИЭТБ РАН). Наибольшим достижением институтов РАСХН в этом направлении является получение клонированных эмбрионов крупного рогатого скота с использованием в качестве цитопластов ооцитов, дозревавших *in vitro*, и в качестве кариопластов ядер соматических клеток (фибробластов и клеток кумулюса). Таким образом, к настоящему времени завершен лабораторный этап исследований. Получение клонированных животных сдерживается чисто хозяйственными проблемами, связанными с обычной трансплантацией эмбрионов (поиск хозяйств, необходимого количества животных-реципиентов и средств за их использование).

Приведены примеры принципиального использования биоинженерных технологий в практике животноводства. Однако эти технологии пока имеют низкую эффективность как в России, так и за рубежом, и поэтому основной задачей для исследователей остается совершенствование основных этапов этих технологий с целью повышения их эффективности.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## БИОТЕХНОЛОГИЯ КАК НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПРИОРИТЕТ РОССИИ НА БЛИЖАЙШУЮ И ОТДАЛЕННУЮ ПЕРСПЕКТИВУ

Р.Г. ВАСИЛОВ\*

*Общество биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова, Москва*

Крупнейшие секторы современной мировой экономики представлены следующим образом:

- банки — 17,7%,
- нефть и газ — 11,2%,
- фармацевтика и биотехнология — 7,8%,
- компьютеры, IT-оборудование — 5,6%,
- услуги фиксированной связи — 4,1%,
- страхование — 3,8%,
- программное обеспечение и услуги — 3,6%,
- остальные 30 секторов мировой экономики — 46,6%.

В настоящее время приобрел большое значение термин «Биоэкономика». Он обозначает все виды промышленности и сектора экономики, вовлеченные в производство, коммерциализацию и управление биоресурсами (сельское хозяйство, пищевая, лесная, целлюлозно-бумажная промышленность, рыбоводство и др.). Оставив в стороне семантическую сущность нового термина, укажем лишь на то, что в нынешних условиях он приобретает все большую роль как макроэкономического фактора, влияющего на все отрасли народного хозяйства в целом.

Приведем данные по биоэкономике в России (табл. 1).

Из таблицы 1 следует, что доля биотехнологии в общем объеме биоэкономики крайне мала.

В настоящее время принято говорить о трех главных этапах биотехнологии: красном, зеленом и белом. Что дает биотехнология современному обществу?

В области медицины (это был этап красной биотехнологии) удалось наладить выпуск генно-инженерных препаратов (инсулин, интерферон), гормонов, вакцин.

Этап зеленой биотехнологии был связан с агробиотехнологической революцией — интродукцией биоинженерных растений во многих странах мира (соя, кукуруза, рис и др.).

Следующим этапом развития биотехнологии является белая технология. Она позволит обеспечить существенный прорыв в области производства биотоплива, биопродуктов, осуществление биопроцессов и проведение биоремедиации.

Концепция биоэкономики, основанной на знаниях, исходит из принципа максимального использования возобновляемого сырья.

Благоприятным прогностическим фактором для развития биотехнологии являются мировые тенденции

**Таблица 1**

### Биоэкономика в России

Сектор экономики, 2005 г.	Годовой оборот, млрд. руб.	Занятость, тыс. чел.
Пищевая промышленность	1480	1422
Сельское хозяйство (включая лесное хозяйство и рыбоводство)	1501	7102
Деревообрабатывающая и целлюлозно-бумажная промышленность	453	680
Биотехнологическое производство (биофармацевтика, ферменты и другие биопрепараты)	45	н/д
<b>ВСЕГО:</b>	<b>3479 (15,7%)</b>	<b>9204 (10,2%)</b>

*Источник: Россия в цифрах 2006, ФСГС (Росстат), Москва, 2006*

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Василев Раиф Гаянович,  
профессор, Общество биотехнологов России  
им. Ю.А. Овчинникова,  
Москва  
E-mail: obr@biorosinfo.ru

---

изменения цен на сырье. Так, например, если цены на нефть будут неуклонно расти вверх, то цены на углеводы сохраняются примерно на одном уровне.

Эксперты в области биоэкономики подчеркивают значение следующих обстоятельств, способствующих ее развитию:

- Ясное понимание необходимости поддержки и бережного отношения к биотехнологии на уровне правительства, политиков, производственных организаций, государственных и частных исследовательских структур, гражданского общества в целом.
- Формирование законодательной, институциональной и социальной среды, оказывающей поддержку биоэкономике.
- Демонстрация преимуществ биоэкономики для человека и природы.
- Использование преимуществ биоэкономики для повышения конкурентоспособности, улучшения экологии и для развития сельского хозяйства.

- Тесное взаимодействие участников всех звеньев биоэкономической цепи — работников сельского хозяйства, промышленности, законодателей, конечных потребителей.

В рамках Национальной программы «Развитие биотехнологии в Российской Федерации на 2004—2015 гг.» предусмотрены приоритеты, корреспондирующие с концептуальными положениями биоэкономики. В связи с этим активно поддерживаются региональные проекты, связанные с производством биотоплива. Актуальными также являются инициативы по созданию современных производств по глубокой переработке зерна. Экологическая биотехнология и проблема сохранения биоресурсов и биоразнообразия также всегда находились в поле зрения Общества биотехнологов России и Программы.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6—7 декабря 2006 г.*

## ПРОБЛЕМЫ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ И ПОДГОТОВКИ КАДРОВ БИОТЕХНОЛОГОВ

В.И. ШВЕЦ\*

*Московская государственная академия  
тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова*

Проблема биотехнологического образования и подготовки кадров биотехнологов представляет одну из ключевых проблем, без решения которой трудно рассчитывать на эффективную реализацию Национальной программы «Развитие биотехнологии в Российской Федерации на 2006–2015 гг.».

Аналізу существующей ситуации, проблемам в этой области, путям и методам создания эффективной, современной, универсальной системы биотехнологического образования (имеется в виду биотехнологическое образование в университетах, технологических, педагогических, медицинских, сельскохозяйственных и других вузах) был посвящен круглый стол № 2 «Проблемы биотехнологического образования» Третьего съезда общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова.

Эту работу проводила кафедра биотехнологии Московской государственной академии тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова и Учебно-научный центр Института биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН.

Был проанализирован опыт совместной образовательной работы в области биотехнологии и ее планирования на 2006–2015 гг. с МГУ им. М.В. Ломоносова (биологический, химический факультеты, факультеты фундаментальной медицины, биоинженерии и биоинформатики), с подобными факультетами Российского университета дружбы народов, Пуштинского ГУ, Владикавказского ГУ, Волгоградского ГУ, Воронежского ГУ, Казанского ГУ, Красноярского ГУ, Кубанского ГУ, Мордовского ГУ, Нижегородского ГУ, Санкт-Петербургского ГУ, Самарского ГУ, Саратовского ГУ,

Ставропольского ГУ, Удмурдтского ГУ, Уральского ГУ, МФТИ, МИТХТ им. М.В. Ломоносова, РХТУ им. Д.И. Менделеева, Калининградского технического государственного университета, Московской и Ярославской государственных медицинских академий, Пятигорской государственной фармацевтической академии, Московской государственной ветеринарной академии, Волгоградского государственного педагогического университета и других вузов России подобной направленности. Результатом этой работы явился проект Национальной программы «Развитие биотехнологии в Российской Федерации на 2006–2015 гг.» по направлению «Биотехнологическое образование», основное содержание которого излагается далее.

Подготовка кадров различного уровня по приоритетному направлению «Биотехнология» является одним из необходимых условий для проведения исследований и изучения практических результатов, позволяющих решать проблемы охраны здоровья, обеспечения продовольствием, утилизации отходов, сохранения биосферы, предотвращения экологических катастроф и т.д. Стремительный темп развития и междисциплинарный характер этой области знания делает очевидной необходимость формирования образовательного направления в рамках Национальной программы «Развитие биотехнологии в Российской Федерации на 2006–2015 гг.»

Основные цели образовательного направления Национальной программы:

1. Обеспечение опережающего характера биотехнологического образования путем оперативного внедрения в учебный процесс новейших разделов биотехнологии с целью подготовки специалистов-биотехнологов на самом современном уровне в соответствии с мировыми стандартами.
2. Определение на базе многоуровневой системы образования перспективных направлений, специальностей

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Швец В.И.,

Московская государственная академия

тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова



и специализаций биотехнологического образования, приводящих к его выходу на качественно новый уровень.

3. Формирование современной инфраструктуры биотехнологического образования.
4. Обеспечение эффективной интеграции научного и кадрового потенциала высших учебных заведений и научных организаций биотехнологического профиля для подготовки специалистов высокого уровня в области биотехнологии.
5. Осуществление международного сотрудничества и определение форм и методов взаимодействия отечественного биотехнологического образования с международными системами образования в плане реализации многоуровневой концепции Болонского процесса гармонизации высшего образования.

Приоритетными мероприятиями образовательного направления Национальной программы развития биотехнологии являются:

1. Для реализации основных целей образовательного направления Национальной программы необходимо создание Национального научно-образовательного биотехнологического центра на базе Учебно-научного центра Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН и передовых российских университетов и вузов различной направленности, осуществляющих подготовку специалистов в области биотехнологии.
2. Модернизация и совершенствование системы подготовки кадров различного уровня и повышение квалификации в области биотехнологии, включая практическое обучение по новейшим экспериментальным методикам биотехнологии, осуществление инновационной деятельности в образовательной и научной сферах на базе Национального научно-образовательного биотехнологического центра и передовых российских вузов и предприятий, специализирующихся в биотехнологии.
3. Создание системы телекоммуникационных связей Национального научно-образовательного биотехнологического центра с высшими учебными заведениями и научно-исследовательскими организациями биотехнологического профиля различных регионов Российской Федерации с целью использования новейших информационных технологий в биотехнологическом образовании.
4. Создание в главных вузах биотехнологического профиля систем дистанционного обучения для подготовки, преподавания и повышения квалификации

специалистов-биотехнологов в различных регионах Российской Федерации.

5. Поддержка, подготовка и повышение квалификации преподавательских кадров вузов биотехнологического профиля на базе Национального научно-образовательного биотехнологического центра.
6. Разработка новых систем, методов и форм образовательной деятельности, подготовка и оптимизация образовательных стандартов, направлений, специальностей, специализаций и учебных программ в вузах различной направленности, специализирующихся в области биотехнологии.
7. Разработка с использованием созданной организационной структуры новых учебных пособий по биотехнологии, включая электронные учебные пособия по теоретическим и прикладным основам биотехнологии и электронные практикумы по новейшим экспериментальным методам биотехнологии с видео-иллюстрированным материалом для специалистов-биотехнологов фундаментального и экспериментального плана.
8. Организация и проведение Национальным научно-образовательным биотехнологическим центром всероссийских и международных научно-методических конференций, школ и конкурсов для преподавателей, научных сотрудников, докторантов, аспирантов, студентов, специализирующихся в области биотехнологии, под эгидой Российского общества биотехнологов им. Ю.А. Овчинникова.

Основные результаты реализации мероприятий образовательного направления Национальной программы:

- В рамках Национальной программы будет создан Национальный научно-образовательный центр в области биотехнологии на базе ИБХ РАН и передовых российских университетов и вузов различного профиля, специализирующихся на подготовке специалистов-биотехнологов, как общероссийский методологический комплекс для реализации наукоемких образовательных и постобразовательных технологий, программы образовательного направления Национальной программы.
- Будут разработаны предложения по модернизации системы биотехнологического образования с целью формирования новой наукоемкой образовательной среды и развития научно-образовательной и инновационной деятельности в области биотехнологии.

- Будут разработаны новые системы, методы и формы интеграции образовательной и научной деятельности в области биотехнологии.
- Будут оптимизированы образовательные стандарты, программы высшего профессионального образования, послевузовской подготовки и системы повышения квалификации и подготовлены новые учебные пособия в области биотехнологии.
- Будут разработаны рекомендации по формированию современной инфраструктуры биотехнологического образования с целью достижения синергического эффекта при интеграции образовательной и научной деятельности на примере Национального научно-образовательного центра.
- Будет сформирована современная материально-техническая база образовательного процесса.
- Будет создана система дистанционного обучения для подготовки, переподготовки и повышения квалификации кадров различного профиля в области биотехнологии.
- Будут определены перспективные направления, специальности и специализации биотехнологического образования, приводящие к его выходу на мировой уровень.
- Будут определены методы и формы инкорпорирования отечественного высшего профессионального биотехнологического образования в международные системы образования.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*



## КОМПЛЕКСНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ЛАКТО- И БИФИДОБАКТЕРИЙ В ПРОИЗВОДСТВЕ ПРОБИОТИКОВ

В.А. НЕСЧИСЛЯЕВ\*, Е.И. МОЛОХОВА, Л.П. ЧИСТОХИНА,  
Ю.В. СОРОКИНА, И.В. БЕЛОВА

ГОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия»,  
Пермь

Необходимость обеспечения практического здравоохранения широким арсеналом эффективных и доступных препаратов для коррекции дисбиоза предполагает разработку пробиотиков нового поколения и технологических приемов для их изготовления.

Одним из перспективных направлений является использование в производстве пробиотических препаратов биологически активных метаболитов, продуцируемых бактериями нормальной микрофлоры организма человека. Экзометаболиты лакто- и бифидобактерий стимулируют рост резидентной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, подавляют патогенные микроорганизмы, способствуют регенерации эпителия слизистой оболочки и оказывают иммуномодулирующее действие.

Эти свойства позволяют рассматривать бактериальные метаболиты в качестве биологически активных субстанций для изготовления пробиотиков нового поколения. Из препаратов этой группы в России до настоящего времени применяется только импортный «Хилак форте» (Германия), содержащий продукты жизнедеятельности четырех видов микроорганизмов нормофлоры.

Нами показана целесообразность и отработаны методические аспекты выделения низкомолекулярных метаболитов в ходе концентрирования бактериальной взвеси ультрафильтрацией.

Данный технологический процесс является безотходным и позволяет получать два самостоятельных полу-

фабриката: бесклеточный ультрафильтрат и концентрат бактериальной взвеси производственного штамма, предназначенный и пригодный для изготовления различных лекарственных форм пробиотика.

Для стабилизации ультрафильтрата рационально использовать термическую обработку, способствующую сохранению и повышению биологической активности метаболитного комплекса.

По указанной технологии нами получен препарат «Микростим», содержащий низкомолекулярные метаболиты лактобактерий штамма *Lactobacillus plantarum* 8P-A3. Проведенные доклинические испытания показали, что препарат обладает выраженной пробиотической и иммуномодулирующей активностью.

В ходе технологических разработок мягких лекарственных форм пробиотиков был апробирован способ приготовления мазевых основ с использованием бесклеточной культуральной жидкости (КЖ) лакто- и бифидобактерий.

Установлено, что применение КЖ вместо воды в качестве жидкой фазы практически не изменяет внешнего вида основ и не влияет на структурно-механические свойства мягких композиций. Такие основы можно использовать не только в производстве пробиотических препаратов, но и для изготовления мазей антибактериального действия.

Биологические свойства этих основ, содержащих 25–80% КЖ, позволяют рассматривать их в качестве самостоятельного лекарственного средства, способного нормализовать микрофлору кожи и слизистых. Способ приготовления основы для мягких лекарственных форм с использованием в качестве жидкой фазы метаболитов лакто- и бифидобактерий может быть применен в производстве косметической продукции.

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Несчисляев В.А.,  
ГОУ ВПО «Пермская государственная  
фармацевтическая академия»,  
Пермь

Высокая биологическая активность КЖ лакто- и бифидобактерий, проявление которой характеризуется стимуляцией бактерий производственных штаммов, может быть использована для повышения эффективности технологического процесса получения пробиотиков. Эксперименты по применению фильтратов и ультрафильтратов КЖ в качестве компонентов питательных сред позволили выявить ряд положительных эффектов, связанных со скоростью и уровнем накопления биомассы клеток.

Использование КЖ для приготовления защитной среды позволяет улучшить биологические свойства лиофилизированных препаратов, в частности, повысить устойчивость бифидобактерий к бактерицидному действию

секретов желудочно-кишечного тракта. Применение указанных приемов будет способствовать оптимизации изготовления и повышению специфической активности пробиотиков.

Следует заметить, что рассмотренные направления практического использования бактериальных метаболитов не охватывают всех возможных сфер применения их биологического потенциала, более полная реализация которого предполагает проведение дальнейших исследований.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭКСПРЕССИИ И ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОБИОТИКА *VACILLUS SUBTILIS* 2335/ρВМВ105, ПРОДУЦЕНТА α2-ИНТЕРФЕРОНА ЧЕЛОВЕКА

Т.Ю. КРЫЛОВА<sup>1\*</sup>, Т.В. КАРГАТОВА<sup>1</sup>, О.А. МОГИЛЬНАЯ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Красноярский научный центр СО РАН;

<sup>2</sup> Институт биофизики СО РАН, Красноярск

Несмотря на то, что применение пробиотиков не является новым направлением биотехнологии, проблемы эффективности их использования и экологической безопасности становятся все более актуальными. Пробиотики на основе спорообразующих форм, чаще это бактерии рода *Vacillus*, удобны в хранении и обладают выраженной антагонистической активностью в отношении патогенных и условно-патогенных бактерий.

Трансгенный штамм *Vacillus subtilis* 2335/ρВМВ105 (пробиотический препарат Субалин), кроме антибактериальной активности, обладает противовирусной активностью, поскольку рекомбинантная плазида ρВМВ105 содержит гены конститутивного синтеза α2-интерферона человека, сцепленные с маркерными генами устойчивости к канамицину (Km<sup>r</sup>, Inf<sup>+</sup>). Особенность данного направления состоит в том, что наряду с оценкой эффективности препарата требуется оценка его биологической и экологической безопасности.

Исследование посвящено изучению гетерогенности штамма при получении препарата и его использовании. Оценивали гетерогенность популяции *Vacillus subtilis* 2335/ρВМВ105 по устойчивости к канамицину, снижению копийности рекомбинантной плазмиды, а также по соотношению в популяции вегетативных клеток и спор.

Показано, что в богатых средах гетерогенность популяции *Vacillus subtilis* 2335/ρВМВ105 значительно выше, чем в минимальных средах, где сохраняется стабильность экспрессии плазмидных генов даже в отсутствие селективного фактора (канамицина). Это необходимо учитывать при наработке эффективного

бактериопрепарата. В дальнейшем препарат хранится в лиофилизированном виде, при оживлении которого перед непосредственным использованием в лечебной практике необходима активация роста клеток.

На этом этапе наиболее благоприятными условиями для снижения гетерогенности по экспрессии плазмидных генов являются среды, богатые аминокислотами (в эксперименте нами использовалась пептонная вода). При оживлении препарата в молоке или в воде уровень гетерогенности популяции *Vacillus subtilis* 2335/ρВМВ105 был более высоким в сторону снижения экспрессии плазмидных генов, чем в пептонной воде.

С другой стороны, после использования препарата Субалин и неизбежного его попадания в открытые экосистемы необходимо, чтобы экспрессия клонированных генов снижалась, а клетки, несущие эти гены, погибали. Проведена оценка выживаемости клеток *Vacillus subtilis* 2335/ρВМВ105 в условиях водных микрокосмов разной сложности.

Если условия в микрокосмах характеризовались низкой концентрацией питательных веществ, то основная часть клеток в популяции переходила в споровые формы при прорастании которых, а также в вегетативных клетках, потери рекомбинантной плазмиды не обнаружено, хотя по ее копийности и по порогу устойчивости к канамицину выявлена гетерогенность.

При пассажах изолятов трансгенного штамма со сниженной экспрессией плазмидных генов на средах с постепенным увеличением селективного фактора во всех случаях восстанавливался порог устойчивости к канамицину даже выше исходного.

Штамм *Vacillus subtilis* 2335/ρВМВ105 способен формировать структурированные сообщества в виде хлопьев (вода-вода), биопленок (вода-воздух), обрастаний (вода-стенки микрокосмов).

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Крылова Т.Ю.,

Красноярский научный центр СО РАН

В присутствии стрессовых факторов (высокое осмотическое давление, тяжелые металлы) процессы образования структурированных сообществ усиливаются. При действии двух стрессовых факторов популяция *Bacillus subtilis* 2335/ρВМВ105 нежизнеспособна в монокультуре, но в бикультурах с природными бактериями (в частности, с представителями родов *Alcaligenes* и *Acinetobacter*) способна выживать в биопленках, сохраняя свой исходный генотип.

В результате проведенных исследований составлен предварительный экологический паспорт на исследуемый бактериальный препарат Субалин, прогнозирующий его наиболее вероятное поведение в окружающей среде.

Таким образом, в ряде случаев возможна длительная персистенция данного биопрепарата в микробном

сообществе природных экосистем с сохранением способности к экспрессии клонированного гена  $\alpha 2$ -интерферона человека.

Следовательно, созданный на основе штамма *Bacillus subtilis* 2335/ρВМВ105 препарат представляет определенную угрозу естественному биоразнообразию. Это необходимо иметь в виду в процессе его использования в ветеринарии.

*Работа поддержана грантом РФФИ 05-05-64053.*

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ МОДИФИКАЦИИ ОТХОДОВ ПЕРЕРАБОТКИ ГИДРОБИОНТОВ

Т.К. КАЛЕНИК\*, О.В. ТАБАКАЕВА

*Тихоокеанский государственный экономический университет,  
Владивосток*

В современной пищевой индустрии перспективным направлением является производство продуктов из нетрадиционного сырья, содержащего широкий спектр ценных микронутриентов, необходимых для сохранения или восстановления здоровья человека, и одновременно более полное, комплексное использование природных биоресурсов.

Проблема производства продуктов высокого качества, обогащенных физиологически ценными веществами с защитными свойствами, перспективным источником которых являются морские гидробионты, и что в особенности важно, и отходы их переработки, является приоритетной и значимой. Отходы переработки съедобной голотурии *Cuscutaria japonica*, содержащие ценный комплекс биологически активных веществ (тритерпеновых гликозидов и гексоаминов) в настоящее время недостаточно широко и эффективно применяются в пищевой промышленности.

Одним из путей использования отходов переработки кукумарии является их модификация различными способами, в том числе и биотехнологическими. Для получения ферментативных гидролизатов из внутренних и венчика и щупалец кукумарии использовали протеолитический ферментный препарат Протомегатерин Г20х (ТУ 00479942-002-94), удельная активность 800 ПЕ/г. Оптимум проявляется при температуре 43–45 °С.

Выбор рациональных условий гидролиза венчика и щупалец кукумарии осуществляли, исходя из максимальной степени гидролиза белков тканей и содержания сухих веществ в ферментативном гидролизате, с учетом фермент-субстратного соотношения и продолжительнос-

ти гидролиза. Процесс осуществляли при температурах: комнатной (21 °С) и оптимума для данного ферментного препарата (45 °С). Использовались следующие фермент-субстратные соотношения: 1:2, 1:4, 1:8. Полученные экспериментальные данные показывают, что при ферментативном гидролизе венчика и щупалец кукумарии происходит разрушение белков и накопление растворимых веществ в ФГ. Повышение температуры увеличивает степень гидролиза на 10–15% и накопление растворимых сухих веществ в ФГ — на 1,5–2,2%.

Экспериментальные исследования показали, что увеличение степени измельчения повышает накопление их в ферментативном гидролизате, достигая максимума при размере частиц 5 мм. Дальнейшее измельчение нативного сырья не приводит к значительному увеличению содержания сухих растворимых веществ. При анализе влияния гидромодуля на содержание растворимых веществ показано, что максимальное накопление наблюдается при гидромодуле 1:1. Анализ выявленных частных зависимостей позволил сделать вывод, что наибольшее значение функции получено в следующих диапазонах параметров проведения процесса: гидромодуль 1:1, размер частиц 3–5 мм, продолжительность гидролиза 16–18 часов.

При ферментативной обработке отходов переработки кукумарии происходит частичный переход биологически активных веществ (тритерпеновых гликозидов и гексоаминов) из нативного сырья в ферментативный гидролизат. При исследовании зависимости содержания тритерпеновых гликозидов и гексоаминов в ферментативном гидролизате от условий проведения гидролиза использовали: фермент-субстратные соотношения — 1:2, 1:4, 1:8; температуры — 21 и 45 °С; продолжительность гидролиза — от 4 до 24 часов. Основными факторами, влияющими на накопление в ферментативных гидролизатах тритерпеновых гликозидов и гексоаминов, являются фермент-субстратное соотношение и продолжитель-

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Каленик Т.К.,

Тихоокеанский государственный экономический университет,  
Владивосток

ность обработки. Температура незначительно влияет на накопление БАВ в ферментативном гидролизате. Максимальное накопление отмечено в ферментативных гидролизатах, полученных при фермент-субстратном соотношении 1:4, продолжительности гидролиза 16 часов и температуре 45 °С.

Таким образом, получаемые модифицированные биотехнологическим способом отходы переработки кукумарии являются ценными полуфабрикатами, содержащими биологически активные вещества — тритерпеновые гликозиды и гексозамины, что необходимо использовать в пищевой промышленности.

Ферментативные гидролизаты из внутренностей и венчика и щупалец кукумарии обладают структурообразующими свойствами, которые были изучены по трем показателям — коэффициенту поверхностного натяжения, эмульгирующей и пенообразующей способности.

На основании исследования структурообразующих свойств модифицированных отходов переработки кукумарии обосновано применение их в качестве компонента бинарного композиционного эмульгатора для стабилизации

пищевых эмульсий, состоящего из растительного белка (обезжиренной соевой муки) и животного белка.

На основе нового бинарного композиционного эмульгатора разработано две рецептуры майонезов и предложена модификация технологии их производства.

Новые майонезы являются высокоценными за счет содержания в них ценных макро- и микроэлементов, биологически активных веществ — тритерпеновых гликозидов и гексозаминов.

Использование биотехнологических способов модификации отходов переработки кукумарии позволяет решить сразу две задачи — создать безотходное производство и обеспечить использование вторичных ресурсов и одновременно разрабатывать новые, высоко ценные пищевые продукты, содержащие ценные биологически активные вещества гидробионтов.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*



## ПОТЕНЦИАЛЬНО МОРФОГЕННЫЕ АНДРОКЛИННЫЕ КАЛЛУСЫ КАК ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ ИСТОЧНИК ПОЛУЧЕНИЯ ДИГАПЛОИДОВ

Д.Ю. ЗАЙЦЕВ \*

*Институт биологии Уфимского научного центра РАН,  
Уфа*

Андроклиния, или андрогенез *in vitro* — феномен образования в условиях культуры *in vitro* способного к репродукции гаплоидного растения-регенеранта из морфогенетически компетентной клетки пыльника. Однако выход гаплоидных регенерантов *in vitro* у многих видов цветковых растений крайне низок.

Один из путей массового получения регенерантов — формирование в культуре *in vitro* морфогенных каллусов, клетки которых способны к дальнейшему морфогенезу *in vitro* и регенерации растений, в отличие от неморфогенных каллусов, клетки которых не обладают такой способностью. В получении того или иного типа андроклинного каллуса определяющую роль играет гормональный состав индукционной питательной среды для культивирования пыльников (баланс между концентрацией экзогенного ауксина 2,4-Д в составе индукционной среды Potato II и содержанием эндогенной ИУК в пыльниках в момент инокуляции).

Так, при культивировании пыльников пшеницы линии Фотос (содержание эндогенной ИУК в пыльнике —  $432,1 \pm 2,8$  нг/г сырой массы) формируются каллусы трех типов. Каллусы I типа, сформированные на индукционной среде с низкой концентрацией 2,4-Д (1,0 мг/л) характеризовались белым матовым цветом, плотной компактной структурой и узловатой формой. При светооптическом анализе такого каллуса выявлено несколько зон, состоящих из массы однородных меристематических клеток, имеющих тонкие оболочки и центрально расположенные ядра. На среде для регенерации Vlaydes в таких каллусах отмечались различные пути морфогенеза, поэтому такой тип каллуса был определен как морфогенный.

Каллусы II типа, сформированные на индукционной среде с высокой концентрацией 2,4-Д (2,0 мг/л), были желтого цвета, мягкой рыхлой обводненной структуры, неопределенной формы. В таком каллусе выделялись две зоны клеток — небольшая центральная, представленная мелкими клетками округлой формы, как правило, без ядер, и обширная периферическая, гипертрофированные межклетники которой определяют рыхлость этого типа каллуса. Основная особенность II типа каллуса — отсутствие у составляющих его клеток признаков, характерных для меристематических клеток. На среде для регенерации Vlaydes клетки таких каллусов полностью дегенерировали. Такой тип каллуса был отнесен к неморфогенному.

Каллусы III типа, полученные при использовании индукционной среды с промежуточной концентрацией 2,4-Д (1,5 мг/л) имели морфологическое сходство и с каллусами I типа (белый цвет), и с каллусами II типа (мягкая, рыхлая обводненная структура, неопределенная форма).

В составе таких каллусов выявлено несколько зон клеток: мелкие клетки с относительно крупными ядрами, округлые клетками с мелкими ядрами, клетки неправильной формы и различного размера без ядер и с хорошо развитыми межклетниками.

В связи с таким гистологическим статусом было предположено, что часть клеток, возможно, имеет морфогенетический потенциал для дальнейшего развития. Поэтому каллусы III типа переносили на свежую индукционную среду Potato II прежнего состава (2-й пассаж). Через несколько суток в каллусах отмечалось появление обширных зон клеток, по строению подобных меристематическим клеткам каллусов I типа. После переноса таких каллусов на среду для регенерации Vlaydes в них выявлялись различные пути морфогенеза. Поэтому III тип каллуса был определен как потенциально морфогенный.

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Зайцев Д.Ю.,

Институт биологии Уфимского научного центра РАН,  
Уфа



Такие данные могут вызвать интерес биотехнологов. Действительно, если количество морфогенных каллусов ограничено, то в биотехнологической практике можно использовать каллусы III типа — потенциально морфогенные. Тем не менее для более точной идентификации морфогенных и потенциально морфогенных андроклиновых каллусов необходим гистологический контроль.

В литературе принято считать, что существует два контрастных типа каллусов — рыхлый обводненный и плотный узловатый, причем плотный каллус используется как морфогенетически перспективный, а рыхлый отбраковывается.

Однако полученные нами данные заставляют пересмотреть уже сложившееся представление о неморфогенной природе рыхлых каллусов. Более того, рыхлый эмбриогенный каллус вызывает большой интерес

исследователей, поскольку, с одной стороны, сохраняет регенерационную способность в течение длительного времени, а с другой — является ценным источником клеточных суспензий и протопластов, также обладающих регенерационной способностью.

*Исследования поддержаны РФФИ (гранты № 05-04-97911), РФФИ-офи (грант № 05-04-08114), программой «Ведущие научные школы Российской Федерации» (гранты № НШ 2148.2003.4 и № НШ 4834.2006.4) и ГНТП АН РБ «Воспроизводство биоресурсного потенциала Республики Башкортостан».*

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## СИНТЕЗ С-КОНЦЕВЫХ АНАЛОГОВ ДЕРМОРФИНА И ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ И МЕТАБОЛИЗМА ПРИ ВНУТРИМЫШЕЧНОМ ВВЕДЕНИИ ЭТИХ ПЕПТИДОВ

П.С. ГРОМОВЫХ\*, К.В. ШЕВЧЕНКО, Л.А.АНДРЕЕВА, Л.Ю. АЛФЕЕВА,  
В.П. ШЕВЧЕНКО, И.Ю. НАГАЕВ, Н.Ф. МЯСОЕДОВ

*Институт молекулярной генетики РАН,  
Москва*

В работе синтезированы меченные тритием С-концевые фрагменты дерморфина Tyr-[3,4-<sup>3</sup>H]Pro-Ser-NH<sub>2</sub> и Tyr-D[3,4-<sup>3</sup>H]Pro-Ser-NH<sub>2</sub> с молярной радиоактивностью 35 Ки/ммоль. Показано, что в крови трипептиды обнаруживаются только в течение первых 5 минут, наибольшее содержание трипептидов (Tyr-[3,4-<sup>3</sup>H]Pro-Ser-NH<sub>2</sub> около 3,5% от общего количества введенной метки.

Дерморфин (Tyr-D-Ala-Phe-Gly-Tyr-Pro-Ser-NH<sub>2</sub>) — эндогенный опиоидный пептид, обладающий высокой биологической активностью. Дерморфин и его аналог [Нур<sup>6</sup>]-дерморфин впервые были выделены из кожи южноамериканских лягушек. Дерморфины также были обнаружены в центральной нервной системе и периферических органах теплокровных животных. Дерморфин обладает широким спектром физиологической активности, влияет на функции сердечно-сосудистой, дыхательной, выделительной систем и влияет на различные формы поведения животных. Дерморфин оказывает влияние на систему терморегуляции теплокровных и обладает анальгетическим действием, превышающим эффект морфина в 290 раз при центральном и 10–25 раз — периферическом способах введения.

Общим в первичной структуре всех природных дерморфинов является N-концевая последовательность Tyr-DAla-Phe, в которой между двумя ароматическими кольцами присутствует остаток DAla [2]. Укорочение дерморфина с С-конца приводит к уменьшению его анальгетической активности, при этом минимальным

фрагментом для проявления анальгетической активности, является его N-концевой тетрапептид. Исследование фармакокинетики дерморфина при внутривенном введении крысам показало, что он имеет короткое время жизни в крови ( $t_{1/2}=1,3$  мин) и накапливается в печени и почках. Через 5 минут после введения в крови крысы содержится 7% от введенного пептида, 34% из которых составляет интактный дерморфин и 60% — продукты распада (ди-, три- и тетра- N-концевые фрагменты). Основное место разрыва цепочки ферментами гомогената мозга — связь Gly<sup>4</sup>-Tyr<sup>5</sup>.

Ранее было показано, что стереохимическая модификация Pro в шестом положении приводит к изменению терморегуляторной активности пептида и усилению анальгетической; поэтому изучение С-концевых фрагментов дерморфина представляет большой интерес. В качестве таких С-концевых фрагментов дерморфина представляет интерес исследование Tyr-Pro-Ser-NH<sub>2</sub> и Tyr-DPro-Ser-NH<sub>2</sub>. Нами исследовалась кинетика распределения этих пептидов и их метаболизм в органах и крови крысы. Для ее решения были синтезированы и использованы в работе Tyr-[3,4-<sup>3</sup>H]Pro-Ser-NH<sub>2</sub> и Tyr-[3,4-<sup>3</sup>H]DPro-Ser-NH<sub>2</sub>.

Трипептиды Tyr-[3,4-<sup>3</sup>H]Pro-Ser-NH<sub>2</sub> и Tyr-[3,4-<sup>3</sup>H]DPro-Ser-NH<sub>2</sub> присутствуют в крови только в течение первых пяти минут. Наибольший процент накопления Tyr-[3,4-<sup>3</sup>H]Pro-Ser-NH<sub>2</sub> в органах крысы отмечен в почках и печени через 20 минут. Максимальное включение меченых трипептидов в мозг наблюдается через 20 минут: 0,06% в случае введения Tyr-[3,4-<sup>3</sup>H]Pro-Ser-NH<sub>2</sub> и 0,13% при введении Tyr-[3,4-<sup>3</sup>H]DPro-Ser-NH<sub>2</sub>. В сердце в течение первых 5 минут наблюдается почти одинаковое накопление как Tyr-[3,4-<sup>3</sup>H]Pro-Ser-NH<sub>2</sub>, так и Tyr-[3,4-<sup>3</sup>H]DPro-

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Громовых П.С.,

Институт молекулярной генетики РАН,

Москва

Ser-NH<sub>2</sub>, но затем содержание Tyr-[3,4-<sup>3</sup>H]Pro-Ser-NH<sub>2</sub> падает, в то время как содержание Tyr-[3,4-<sup>3</sup>H]DPro-Ser-NH<sub>2</sub> остается практически неизменным. В легких обнаруживается заметно большее содержание Tyr-[3,4-<sup>3</sup>H]DPro-Ser-NH<sub>2</sub>, чем Tyr-[3,4-<sup>3</sup>H]Pro-Ser-NH<sub>2</sub>: максимальное накопление происходит через 20 минут после введения, в случае введения L-пептида включается 0,22% метки, а в случае введения D-пептида 0,49%. В мозгу обнаруживается D-трипептида примерно в два раза больше, чем L-трипептида.

Во всех тканях крысы образование меченого пролина из L-трипептида идет быстрее, чем D-трипептида, что, связано с меньшей скоростью метаболизма D-аминокислот. Поэтому меньшее содержание L-трипептида

в мозгу крысы обусловлено более быстрым его протеолизом. Суммарное количество метки в мозгу крысы в системе L-трипептид плюс Pro и в системе D-трипептид плюс DPro практически одинаковое.

Этот факт говорит о том, что оба изомера трипептида проникают в мозг крысы в одинаковом количестве в первые минуты после их внутримышечного введения, а через 5 минут после введения (первая временная точка) двукратное преобладание D-трипептида связано с более быстрым протеолизом L-трипептида.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕСС-МЕТОДА ДЛЯ ВИДОВОГО КОНТРОЛЯ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ ПРОБИОТИКОВ

А.Г. ТОЧИЛИНА\*, Н.А. НОВИКОВА, И.В. СОЛОВЬЕВА, К.Я. СОКОЛОВА,  
И.В. БЕЛОВА, Т.П. ИВАНОВА

Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии  
им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора

В свете проводимой политики в пользу здорового питания на внутренний российский рынок поступает широкий ассортимент отечественных и зарубежных продуктов питания, БАД к пище и препаратов, содержащих пробиотические микроорганизмы рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*. Производители предлагают многокомпонентные продукты, в состав которых заложено от 3 до 12 штаммов-продуцентов. В связи с этим назрела объективная необходимость дополнения существующих схем контроля безопасности и пищевой ценности продукта этапом видовой идентификации штаммов-продуцентов, с целью подтверждения наличия всех заложенных в технологическую документацию штаммов в заявленном количестве, что в данный момент не производится.

На текущий момент в нормативных документах указывается необходимость контроля микробиологической безопасности пищевых продуктов, то есть отсутствие патогенной флоры, а также индикации и количественного учета лакто- и бифидобактерий путем высева на плотные питательные среды, микроскопии мазка и титрования (ГОСТ Р 51331 – 99; МУК 4.2.577–96; МУК 4.2.999-00). Указанная методика является несовершенной и не всегда позволяет четко дифференцировать род *Lactobacillus* и род *Bifidobacterium*. Подтверждение родовой принадлежности осуществляется на основе культуральных и морфологических свойств, что не всегда эффективно, особенно при работе со смешанной культурой.

Проблема же видовой идентификации также не решена. Сейчас доступной является лишь биохимическая идентификация бактерий рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, основанная на их сахаролитических свойствах, с использованием дифференциально-диагностических сред фирмы HIMEDIA и биохимических тест-систем Ари фирмы BioMerieux. Но эти тест-системы дороги, мало доступны и не охватывают полный спектр интересующих микроорганизмов. Весь этап выделения и идентификации занимает приблизительно 8 суток, что не удовлетворяет требованиям текущего оперативного контроля продуктов питания, учитывая их срок годности.

Очевидно, что необходимо дополнение существующей методической базы современными молекулярно-генетическими технологиями, методиками на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР), в число достоинств которой входит высокая специфичность и быстрое получение результата. Оправданным и экономически выгодным представляется применение экспресс-метода на основе ПЦР как на этапе текущего технологического контроля на производствах, так и для контроля, осуществляемого органами Роспотребнадзора (контроль видового состава и количественных характеристик).

В ходе работы по созданию лабораторной методики были проанализированы выровненные нуклеотидные последовательности, кодирующие 16S субъединицу рРНК, 21 штамма промышленно значимых молочно-кислых бактерий. Сконструированы олигонуклеотидные праймеры, позволяющие проводить детекцию лакто- и бифидобактерий.

Олигонуклеотид-реверс является общим для родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, олигонуклеотиды-форварды — родоспецифичны. Дизайн праймеров был выполнен с расчетом возможности проведения

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Точилина А.Г.,

Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород

как мультиплексной ПЦР, что целесообразно на этапе контроля препаратов, так и отдельного этапа родоспецифичной ПЦР. Длина амплифицируемых фрагментов при работе с микроорганизмами рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* составляет 800 и 600 пар нуклеотидов, соответственно.

На основе модифицированных литературных праймеров-форвардов и ранее разработанного реверса создана методика идентификации двух видов рода *Lactobacillus*: *L. plantarum*, *L. fermentum*.

Разработанная нами лабораторная экспресс-методика индикации и идентификации бактерий рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* эффективно апробирована

на референтных штаммах, входящих во Всероссийскую коллекцию промышленных микроорганизмов.

В дальнейшем представляется перспективным использование ПЦР для создания методик, позволяющих точно идентифицировать и производить количественный анализ всех наиболее часто применяемых видов молочнокислых бактерий, что актуально для пищевой промышленности, других биотехнологических предприятий и органов Роспотребнадзора.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## ПОЛУЧЕНИЕ ГАПЛОИДОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ ЧЕРЕЗ ФОРМИРОВАНИЕ ПОЛИЭМБРИОИДОВ

О.А. СЕЛЬДИМИРОВА\*

*Институт биологии Уфимского научного центра РАН,  
Уфа*

Один из нетрадиционных путей получения и размножения новых форм и сортов растений — создание экспериментальных систем, обеспечивающих воспроизводимые результаты при строго определенных условиях. Одна из таких систем — культура *in vitro* изолированных пыльников.

Этот метод основан на феномене андроклинии, или андрогенеза *in vitro* — процессе образования гаплоидного растения из микроспоры или клеток пыльцевого зерна.

Основное преимущество использования гаплоидов — возможность быстрого получения гомозиготных линий и сохранение гетерозисного эффекта исходных ценных гибридных линий. Все это имеет большое значение в селекционно-генетических исследованиях, в том числе яровой мягкой пшеницы — основного хлебного злака.

Один из путей получения гаплоидов — эмбриоидогенез (формирование зародышеподобных структур). Эмбриоидогенез более эффективен и выгоден по сравнению с каллусогенезом, поскольку не связан с прохождением сложного и многоступенчатого процесса образования зачастую генетически неоднородного каллуса и не требует трудоемкой процедуры многократных пересадок на среды разного состава.

Основная проблема получения гаплоидов через эмбриоидогенез — низкий выход растений-регенерантов. Один из способов оптимизации получения регенерантов через эмбриоидогенез — индукция полиэмбриоидогенеза, что, с одной стороны, увеличивает количество получаемых растений-регенерантов, а с другой — позволяет сохранять их генетическую однородность.

Главное преимущество полиэмбриоидов — формирование в их апикальной части нескольких точек роста («фасцированных» апексов). Причем, заложение органов в них осуществляется способом, характерным для формирования органов при зиготическом эмбриогенезе *in vivo*. Это приводит к массовому получению растений-регенерантов нормального строения.

Известно, что основной фактор индукции желаемого пути морфогенеза *in vitro* — введение в состав культуральной среды определенных гормонов конкретной концентрации. В частности, определяющим фактором индукции развития сильно вакуолизированных микроспор злаков по спорофитной программе является введение в состав индукционной питательной среды синтетического гормона ауксинового типа действия 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д).

Установлено, что в становлении симметрии зародыша главную роль играет неомогенное распределение ауксина (градиенты ауксина) (Медведев, 2004); потоки ауксина, создавая позиционную информацию, действуют как мощнейший морфогенетический фактор и определяют дифференциацию органов зародыша. Подбор концентрации 2,4-Д, нарушающей полярный транспорт ауксина и ведущей к накоплению 2,4-Д в эмбриоидах, позволяет индуцировать полиэмбриоидогенез.

Однако зачастую подбор концентрации гормонов проводится эмпирическим путем. Сотрудниками нашей лаборатории (Горбунова и др., 2001) предложен надежный критерий индукции путей морфогенеза микроспор на основании гормональных показателей пыльника донорного растения и предложена классификация, разделяющая генотипы яровой мягкой пшеницы на высокоауксиновые и низкоауксиновые.

Методом твердофазного иммуноферментного анализа растительных образцов (Кудоярова и др., 1986), повышающего точность экспериментов за счет высокой специфичности отношений антител к гормонам, уста-

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Сельдимирова О.А.,

Институт биологии Уфимского научного центра РАН,  
Уфа

новлено, что индукция определенного пути морфогенеза микроспор в культуре *in vitro* зависит от баланса уровня (количества и качества) эндогенных (в пыльниках) и экзогенных (в составе питательной среды) гормонов.

Разработанный методический подход обеспечивает управление процессом морфогенеза *in vitro*: адекватный подбор концентрации экзогенного ауксина 2,4-Д в индукционной питательной среде, основанный на точной идентификации содержания эндогенных ауксинов в пыльниках конкретного сорта или линии пшеницы в критической стадии развития, позволяет направить развитие микроспор по определенному пути морфогенеза.

Данный подход способствует ускорению технологии андроклиной гаплоидии за счет управления процессом тиражирования регенерантов посредством

индукции желаемого пути морфогенеза *in vitro*. Это является весьма существенным и при массовом характере генетико-селекционного процесса.

*Исследования поддержаны РФФИ (гранты № 05-04-97911), РФФИ-офи (грант № 05-04-08114), программой «Ведущие научные школы Российской Федерации» (гранты № НШ 2148.2003.4 и № НШ 4834.2006.4) и ГНТП АН РБ «Воспроизводство биоресурсного потенциала Республики Башкортостан».*

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*



## ВЛИЯНИЕ АВТОЛИЗА НА ПЕРЕВАРИВАЕМОСТЬ МЯСА РАКОВ

Л.В. АНТИПОВА\*, В.Н. ГОРНОСТАЙ

*Воронежская государственная технологическая академия,  
Воронеж*

В данной работе представлены результаты по изучению влияния автолитических процессов на перевариваемость мяса рака пресноводного, так как характер и глубина их влияют на качество мяса и его функционально-технологические свойства. В качестве объектов исследования использовали парное мясо рака и мясо после хранения 24 и 72 часа при температуре 0–4 °С.

В ходе гистологических исследований установлено, что в парном мясе, мышечная ткань состояла главным образом из продольных, достаточно плотно расположенных друг к другу разнонаправленных пучков мышечных волокон.

Соединительная ткань стромы в препаратах находилась в пределах нормы. При этом отдельные пучки мышечных волокон по толщине были неравномерными, это зависело от количества составляющих их мышечных клеток. Ядра имели в основном вытянутую овоидальную форму и располагались по периферии мышечных волокон.

Основные изменения были зафиксированы в препаратах, где мышечная ткань выдерживалась в течение 24 и 72 часов. В данный период времени отмечалось дальнейшее усиление разволокнения и деформация структуры мышечной ткани и соединительно-тканых элементов.

Несмотря на общее продольное расположение мышечных волокон, фрагментирование было более обширным. По всей площади срезов были четко зафиксированы разрушение и лизис мышечных волокон. Это наиболее сильно проявлялось в образцах ткани с выдержкой 72 часа.

В данной группе мышечной ткани наблюдалось увеличение некротических участков. Отмечалось усиление кариолитических процессов, неравномерность оксифильной окраски мышечной ткани. Деструктивные процессы вызывали изменения структуры белков и связаны с уровнем «атакуемости» пищеварительными ферментами.

В процессе изучения автолитических процессов, протекающих в мясе рака, была изучена его перевариваемость. Метод определения перевариваемости мяса рака предполагает определение «атакуемости» белков ферментами пищеварительного тракта «пепсин-трипсин» (in vitro). При этом под «атакуемостью» понимают скорость их переваривания.

Преимущество данного метода в том, что он позволит проводить гидролиз в условиях непрерывного перемешивания среды и удалении низкомолекулярных продуктов гидролиза белков через полунепроницаемую мембрану.

Сущность метода заключается в последовательном воздействии на исследуемый образец мяса пепсином, трипсином в специальном приборе. Прибор состоит из ячеек, каждая из которых имеет наружные и внутренние сосуды, разделенные полунепроницаемой мембраной. Во внутренние сосуды помещают стеклянные мешалки, ферментацию проводят при постоянном перемешивании 6 часов.

Продукты расщепления определяли по методу Лоури.

Показатели перевариваемости системой пищеварительных ферментов «пепсин-трипсин» (in vitro) позволяют оценить скорость ферментативного гидролиза опытных образцов. С ходом времени прослеживается накопление продуктов распада белков в процессе переваривания.

При воздействии на парное мясо пепсином в течение 3 часов концентрация тирозина увеличивается с 0 до 0,701 мг на 100 мг белка, при внесении трипсина и

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Антипова Л.В.,  
Воронежская государственная  
технологическая академия,  
Воронеж

воздействии в течение 3 часов его концентрация увеличивается до 0,895 мг на 100 мг белка.

Исследование мяса рака после хранения 24 ч показало, что концентрация тирозина при действии пепсина увеличивается до 0,804 мг на 100 мг белка и при внесении трипсина до 0,955 мг на 100 мг белка. В хранившемся в течение 72 часов мясе рака деструктивные изменения нарастают, и концентрация тирозина увеличилась до 0,847 мг на 100 мг белка и до 1,081 мг на 100 мг белка при воздействии на мясо пепсином и трипсином, соответственно.

Таким образом, исследование перевариваемости белков показало, что аутолитические процессы, развивающиеся в течение 72 часов, вызывают глубокие изменения в структуре белков, что согласуется с данными гистологических исследований, подтверждающими рост некротических изменений, носящих необратимый характер.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## ДОСТАВКА АКТИНОМИЦИНОВ К ДНК С ПОМОЩЬЮ ШПИЛЕЧНЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ И КОФЕИНА

М.А. БИТЕХТИНА\*, А.Э. КОВАЛЕВ, И.В. САВИНЦЕВ, Н.Л. ВЕКШИН

*Институт биофизики клетки РАН,  
Пушино Московской области*

В работе исследована возможность доставки гетероциклических антибиотиков к ДНК с помощью шпилечных олигонуклеотидов и кластеров кофеина. Изучено «переползание» актиномицина Д (AMD) и 7-амино-актиномицина Д ((7AAMD) с синтетической шпильки HP1 d(5'-AAAAAATAGTTTAAATATTTT -3') на ДНК в растворе и клетке. Показана большая эффективность проникновения антибиотика в клетку в виде комплекса с HP1.

Время формирования комплекса между 7AAMD и HP1 при 26 °С составляет всего 0,29 с (детектировалось на «stopped-flow» флуориметре). AMD и 7AAMD конкурируют за место связывания внутри HP1: добавление избытка AMD приводит к мгновенному падению флуоресценции комплекса 7AAMD/HP1. Молекула 7AAMD способна за 0,31 с заменить в шпильке на AMD.

Сходная, но гораздо менее выраженная, конкуренция между 7AAMD и AMD наблюдается при их связывании с ДНК. В отличие от HP1, где есть лишь одно место связывания, в ДНК имеется много таких мест. Хромофоры 7AAMD и AMD локализуются в ДНК (или HP1) в малополярном окружении, сходном с пиридином (Vekshin N. et al. // J. Phys. Chem.: B. 2001. Vol. 105. P. 8461–8467). Встраивание актиномицинов происходит не на поверхности ДНК, а в динамической «полости» между двумя цепочками нуклеотидов, но без стэкинга с ними (Савинцев И.В., Векшин Н.Л. // Прикл. биохим. и микробиол., 2004, Т. 40, № 4, С. 421–428). Вероятно, именно поэтому актиномицины не являются канцерогенами (в отличие от этидиум бро-

мида, интеркалирующего между основаниями ДНК по стэкинговому типу), а являются противоопухолевыми препаратами.

Кинетика встраивания 7AAMD или AMD в ДНК имеет бифазный характер: 4,6 с и 40 с. Быстрая компонента имеет втрое большую амплитуду. Она соответствует связыванию 7AAMD внутри «разрыхленных» мест или петель, а медленная — встраиванию в двойную спираль. Длительность первой компоненты в случае ДНК во много раз больше, чем в случае HP1, так как расплетенные участки и петли ДНК имеют жесткую структуру, а шпилька HP1 — гибкая, «рыхлая», со свободными концами.

Флуоресценция 7AAMD возрастает при связывании с HP1 гораздо сильнее, чем с нативной ДНК (Савинцев И.В., Векшин Н.Л. // Мол. биол. 2002. Т. 36. С. 725–730). Это позволяет наблюдать перераспределение 7AAMD из комплекса с HP1 на ДНК после добавления избытка ДНК. «Переползание» состоит из быстрой фазы — 4,5 с и медленной — 101 с. Две компоненты соответствуют двум типам участков ДНК. Первый — это петли и расплетения, а второй — двойная спираль. Увеличение ионной силы приводило к уменьшению амплитуды быстрой компоненты, т.к. при высокой ионной силе ДНК имеет менее «рыхлую» структуру.

Эти опыты позволили предположить, что актиномицины смогут проникать к ДНК опухолевых клеток, предварительно связавшись со шпилечными олигонуклеотидами. С помощью люминесцентной микроскопии мы исследовали места локализации антибиотика в клеточных структурах после инкубации клеток асцитной карциномы Эрлиха со свободным 7AAMD или с комплексом 7AAMD/HP1.

В случае свободного 7AAMD он аккумулируется в плазматической мембране клеток. В случае же применения комплекса 7AAMD/HP1 наблюдается интенсивное

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Битехтина М.А.,  
Институт биофизики клетки РАН,  
Пушино Московской области

прокрашивание ядер. Добавка AMD в питательную среду вызывала лишь небольшое увеличение гибели клеток карциномы по сравнению с контролем (без AMD). Это связано с тем, что AMD плохо проникает внутрь клеток. При инкубации в присутствии комплекса AMD/HP1 гибель клеток возрастала в несколько раз. При этом цитотоксичность самого HP1 в отношении карциномы была низка и сравнима с цитотоксичностью свободного AMD — не превышала 6%.

Итак, HP1 существенно потенцирует действие AMD. Это можно объяснить не только способностью HP1 переносить актиномицины к ДНК, но также высокой плотностью упаковки олигонуклеотида в комплексе с антибиотиком, что создает условия для эффективного переноса через мембраны.

Другим переносчиком антибиотиков могут служить пуриновые кластеры, например, кластеры кофеина,

образующиеся в воде спонтанно при миллимолярных концентрациях. Мы наблюдали уменьшение коэффициента экстинкции при увеличении концентрации кофеина. Число кластерных молекул кофеина, вычисленное нами по экранировочной модели (Vekshin N. Photonics of Biopolymers. Springer, 2002), составило  $\approx 10$ . При добавлении AMD или 7AAD к кластерам кофеина возникали существенные изменения полос поглощения и возбуждения этих антибиотиков, что говорит о сильном взаимодействии с кофеином. Отсутствие сдвига спектра эмиссии 7AAD в кофеиновых кластерах, а также наличие тушения динитрофенолом указывают на поверхностное связывание антибиотика.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## БИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАБИЛИТАЦИЯ ЗЕМЕЛЬ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ НЕФТЕПРОДУКТАМИ, В УСЛОВИЯХ ЮЖНОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ОКРУГА

Э.В. КАРАСЕВА\*, А.А. ХУДОКОРМОВ, А.А. САМКОВ,  
С.Г. КАРАСЕВ, Н.Н. ВОЛЧЕНКО

*Кубанский государственный университет,  
Краснодар*

Необратимое увеличение трафика нефтепродуктов на территории России, особенно на приграничных территориях, где расположены терминалы, обеспечивающие экспорт углеводородного сырья, вызывает растущую потребность в эффективных способах реабилитации техногенно нарушенных земель.

Особую важность имеет своевременное восстановление нефтезагрязненных территорий для земель сельскохозяйственного назначения. Хозяйственная ценность земель Южного Федерального округа предопределяет необходимость как можно более быстрого возвращения нефтезагрязненной почвы в севооборот, что требует применения дополнительных методов и подходов.

В основу реабилитации загрязненных нефтью земель центром «Биотехнология» Кубанского государственного университета положен метод их очистки на месте разлива нефти (*in situ*), основывающийся на активизации естественных физико-химических и биохимических факторов очищения почв от нефти и последующего восстановления исходных характеристик наземных биогеоценозов.

Основное преимущество этого метода не только в использовании в процессе работ микроорганизмов-деструкторов, выделенных из естественного микробиоценоза (что исключает возможность появления непредсказуемых экологических последствий), но также в применении в процессе работ комплекса мероприятий направленных на восстановление продуктивности нарушенных земель, в том числе структуры и состава почвы, растительного

покрова и хозяйственной ценности. Особое внимание уделяется исследованию и восстановлению биологической активности почв, биоразнообразия почвенных микробиоценозов, как основным факторам, обеспечивающим будущую продуктивность почвы и благополучие всего биоценоза в целом.

К настоящему времени центром «Биотехнология» разработано несколько основных стратегий реабилитации, применяющиеся в зависимости от типа загрязненной почвы и степени загрязнения. В связи с существенными отличиями в свойствах даже в пределах одного типа почвы для достижения положительных результатов при биологической реабилитации нефтезагрязненных территорий необходимо корректировать индивидуальные программы очистки, учитывая степень и характер загрязнения, тип почвы, ее биологическую активность, микробное разнообразие, растительный покров, тип рельефа, климатические условия, характерные для данной местности.

Примененные сотрудниками центра «Биотехнология» подходы позволили в течение одного вегетативного сезона полностью очистить от углеводородов и восстановить природное биоразнообразие на ряде нефтезагрязненных объектов.

Так, биологическая реабилитация 26,5 га нефтезагрязненного чернозема, содержавшего до 80 грамм углеводов на килограмм почвы, на территории хозяйства «Крупское» Выселковского района Краснодарского края заняла 9 месяцев. Конечное содержание углеводов при передаче земли собственнику в сельскохозяйственное пользование составило 0,15 г/кг.

Сходных результатов за один вегетационный период удалось добиться при реабилитации загрязненных нефтью выщелоченных черноземов Ростовской области

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Карасева Э.В.,

Кубанский государственный университет,

Краснодар

и каштановых почв Ставропольского края. Во всех случаях эффективность очистки составила свыше 99%, по окончании работ биологическая активность очищенных почв, их микробное разнообразие и агротехнические показатели были идентичны показателям незагрязненной почвы аналогичного типа.

В процессе лабораторных экспериментов и мероприятий по возвращению в сельскохозяйственное пользование земель, загрязненных нефтепродуктами, установлено, что чем раньше начат процесс биовосстановления, тем быстрее протекает процесс восстановления исходных характеристик биоценоза.

Следует отметить необходимость проведения двухэтапной фиторемедиации на конечных этапах работ.

На первом этапе осуществляется посев сидеральных культур, обеспечивающих быстрое наращивание зеленой биологически активной массы и растений-биоаэрантов, активизирующих работу микробного населения нижних слоев почвы.

На втором этапе высеваются культуры, произрастающие на этой территории до нефтяного загрязнения, что позволяет полностью восстановить исходные биотопические условия.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ЭМБРИОНОВ И ИНТЕГРАЦИЯ ТРАНСГЕНА ПРИ СОВМЕСТНОМ ВВЕДЕНИИ В ПРОНУКЛЕУСЫ МЫШИНЫХ ЗИГОТ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОЙ КОНСТРУКЦИИ И РЕСТРИКТАЗЫ

О.Б. ФАТКУЛИНА\*

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных,  
Боровск*

Современные положения цитогенетики дают основание полагать, что встраивание чужеродной ДНК происходит в местах естественных разрывов хромосомной ДНК хозяина. Вследствие этого возникло предположение, что микроинъекция в пронуклеусы зигот вместе с генно-инженерной конструкцией рестриктаз, с помощью которых осуществлялось вырезание данной конструкции из плазмиды, может способствовать разрезанию хромосомной ДНК с образованием липких концов комплементарных липким концам вводимой генно-инженерной конструкции. В результате этого вероятность встраивания генно-инженерной конструкции в геном эмбрионов может значительно возрасти.

Целью исследований являлась проверка вышеизложенного предположения.

Эксперимент проведен на гибридных мышах (СВА х С57В1) первого поколения (F1). Микроинъекцию генно-инженерной конструкции и рестриктазы в пронуклеусы зигот проводили с помощью микроинъектора и микроманипулятора фирмы «Narishiga» под инвертированным микроскопом типа «Diaphot-TMD» фирмы «Nikon», оснащенного оптикой DIC (по Номарскому). После этого микроинъекцированные зиготы культивировали до стадии бластоцисты в среде M16 под газовой фазой, содержащей 5% CO<sub>2</sub> в воздухе, при t=37 °С.

При создании генно-инженерной конструкции, включающей нуклеотидные последовательности гена гранулоцит-колониестимулирующего фактора человека под

промотором гена  $\alpha$ S1-казеина крупного рогатого скота ( $\alpha$ S1-Cn-G-CSF), для вырезания ее из плазмиды как на 5', так и на 3' конце была использована рестриктаза Sal I. Сама генно-инженерная конструкция не содержит сайтов рестрикции для рестриктазы Sal I.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что увеличение концентрации рестриктазы Sal I в инъекционном растворе с 0,001 до 0,1 ед./мкл достоверно снижает способность инъецированных зигот развиваться in vitro до стадии бластоцисты и выходить из блестящей оболочки, по сравнению с введением буферного раствора Orange (70,8 против 37,9 и 47,0%, соответственно).

Повышение концентрации рестриктазы Sal I в инъекционном растворе до 1 ед./мкл достоверно снижало способность инъецированных зигот развиваться до стадии бластоцисты (18,8%).

Частота интеграции генно-инженерной конструкции в геном мышинных бластоцист при совместном введении в пронуклеусы зигот генно-инженерной конструкции  $\alpha$ S1-Cn-G-CSF и рестриктазы Sal I в концентрации 0,1 и 0,01 ед./мкл была выше, чем после инъекции только одной генно-инженерной конструкции (23,1 и 28,6% против 14,3%, соответственно). Вместе с тем не наблюдалось значительного повышения интеграции чужеродного гена в геном бластоцист при повышении концентрации рестриктазы с 0,01 ед./мкл, до 0,1 ед./мкл.

На основании этого для получения трансгенных животных нами была выбрана концентрация 0,01 ед./мкл. Данная концентрация незначительно снижала способность эмбрионов развиваться in vitro после совместной микроинъекции, но увеличила частоту интеграции трансгена в геном эмбрионов.

Во второй серии экспериментов мышинные зиготы микроинъекцированные в пронуклеусы генно-инженерной

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Фаткулина О.Б.,  
ВНИИ физиологии, биохимии и питания  
сельскохозяйственных животных,  
Боровск



конструкцией  $\alpha S1-Cn-G-CSF$  вместе с рестриктазой Sal I в концентрации 0,01 ед./мкл были трансплантированы самкам-реципиентам первого дня псевдобеременности.

У самок-реципиентов, ставших беременными, приживляемость эмбрионов была практически одинаковой при трансплантации зигот как инъецированных рестриктазой, так и инъецированных только одной конструкцией (38,8 против 40,3%, соответственно), то есть рестриктаза не оказала отрицательного действия на приживляемость эмбрионов у мышей-реципиентов, которые стали беременными.

В результате определения интеграции чужеродного гена с помощью ПЦР-анализа хромосомной ДНК, выделенной из тканей хвоста рожденных мышей, с использованием праймеров GCE1/GCE2 на структурный ген было выявлено два трансгенных животных из

40 рожденных потомков. В контрольной группе из 101 рожденного потомка выявлен 1 трансгенный мышонок.

Таким образом, проведенные исследования показали, что рестриктаза Sal I в концентрации 0,01 ед./мкл, введенная в пронуклеусы мышинных зигот вместе с генно-инженерной конструкцией  $\alpha S1-Cn-G-CSF$ , не оказала существенного отрицательного воздействия на их приживляемость в организме самок-реципиентов, но достоверно повысила интеграцию трансгена в геном рожденного потомства.

*Исследования выполнены при поддержке РФФИ, грант № 04-04-97252.*

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ГЕННОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ РЯСКИ, LEMNA MINOR

С.Е. ГАЙДУКОВА\*, А.М. КАМИОНСКАЯ

Центр «Биоинженерия» РАН,  
Москва

*Lemnaceae* (Рясковые) — широко распространенное семейство водных однодольных растений, встречающихся в пресной воде. Трансгенные растения ряски (род *Lemna*) могут быть идеальной «биофабрикой» по производству важных белков, в том числе антител и вакцин.

Для проведения успешной трансформации и получения растений *Lemna minor*, экспрессирующих целевой белок, прежде всего, необходимо знание оптимальных условий регенерации.

Для этого был проведен ряд экспериментов по выявлению питательной среды, оптимальной по гормональному составу для процессов регенерации, температурных условий и условий освещенности.

Из тестируемых сред (MS, B5, Hoagland's) наилучшей оказалась среда Hoagland's, видимо, ее состав наиболее приближен к химическому составу воды в водоемах, в которых чаще всего встречаются растения семейства *Lemnaceae*.

К настоящему времени проведен ряд экспериментов по подбору оптимальной концентрации фитогормонов для индукции каллусообразования. Оптимальным вариантом оказалось сочетание 2,4-Д в концентрации 20 мг/л и БАП в концентрации 2 мг/л.

Параллельно с изучением регенеративной способности ряски малой был поставлен эксперимент по генетической трансформации растений ряски с помощью штамма *Agrobacterium tumefaciens* AGL1 с вектором Vec035, содержащим репортерный ген GUS.

На пятый день после трансформации было проведено гистохимическое GUS-окрашивание по стандартной методике Джефферсона.

Через три месяца по достижению необходимого объема биомассы было проведено повторное GUS-окрашивание растений, регенерированных из каллусной ткани.

Поскольку при отборе трансформантов из пула растений-регенерантов необходимо использование селективных агентов, для подбора их оптимальных концентраций в питательных средах было проведено несколько серий опытов.

Были использованы: глюфосинат аммония в концентрации 2; 4; 8; 12; 24 мг/л, гигромицин — 0,2; 0,5; 0,7; 1,0; 1,5; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 и 10,0 мг/л, канамицин — 1,5; 1,7; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мг/л и фосфинотрицин — 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 мг/л.

Различия в действии селективных агентов (побеление листочков, замедление темпа их пролиферации и уменьшение размеров дочерних листочков) становились заметными при концентрации глюфосината аммония более 8 мг/л, фосфинотрицина более 3 мг/л, гигромицина и канамицина более 2 мг/л.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Гайдукова С.Е.,  
Центр «Биоинженерия» РАН,  
Москва

## ХАРАКТЕРИСТИКА АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ГЛУБИННОЙ КУЛЬТУРЫ ГРИБОВ ВЕШЕНКИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PLEUROTUS OSTREATUS*) И СЕРНО-ЖЕЛТОГО ТРУТОВИКА (*LAETIPORUS SULPHUREUS*)

О.В. УФИМЦЕВА\*

Сибирский государственный технологический университет,  
Красноярск

Перспективным направлением получения белка является использование для этой цели грибной биомассы. Известно, что биологическая ценность белков микробной и грибной биомассы превышает ценность белков злаковых и бобовых культур.

Производство мицелия по технологии микробиологических производств позволяет сократить продолжительность процесса в 10–15 раз по сравнению с традиционной технологией получения плодовых тел, а выход продукта из сырья повысить в 2–3 раза. К сожалению, до настоящего времени эффективная технология глубинного культивирования мицелия не создана.

Целью настоящего исследования явилось изучение возможности глубинного культивирования мицелия грибов вешенки обыкновенной (*Pleurotus ostreatus*) и серно-желтого трутовика (*Laetiporus sulphureus*).

Выбор этих грибов обусловлен хорошей изученностью состава плодовых тел, отсутствием токсичных метаболитов и пищевой безвредностью.

Имеются также данные о сбалансированном аминокислотном составе белков вешенки.

Задачей работы являлось также изучение состава основных компонентов биомассы и аминокислотного состава белка мицелия.

Мицелий грибов для изучения микроморфологии и использования в качестве посевного материала выращивали на твердой агаризованной питательной среде на чашках Петри. В качестве питательной среды

для глубинного культивирования была использована крахмало-аммонийная среда с содержанием крахмала 1 и 1,5%.

Глубинное культивирование проводили в стерильных условиях в периодическом режиме на лабораторной установке, снабженной с магнитной мешалкой и барботером для подачи стерильного воздуха. Объем ферментатора составлял 1 л, объем культуральной жидкости – 250 мл. Процесс проводили при температуре  $27 \pm 2$  °С и рН = 5.

Накопление биомассы оценивали по величине оптической плотности культуральной жидкости, которую измеряли с помощью ФЭК. Концентрацию биомассы определяли с использованием соответствующего калибровочного графика.

Изучение микроморфологии глубинной культуры в сравнении с поверхностной культурой осуществляли методами оптической и растровой электронной микроскопии.

Содержание белка в гомогенатах биомассы мицелия определяли по методу Бузуна и др. с красителем амидо-черным 10 В. Белки из гомогенатов для последующего гидролиза и проведения аминокислотного анализа экстрагировали буферным раствором на основе Трис-НС1 с рН 8,5. Аминокислотный анализ проводили на автоматическом анализаторе.

Установлено, что в глубинной культуре мицелий серно-желтого трутовика фрагментируется на короткие фрагменты и демонстрирует при дальнейшем росте и развитии культуры, вероятно, мицелиально-дрожжевой диморфизм.

В отличие от жидкофазного поверхностного культивирования мицелия вешенки, когда при образовании воздушного мицелия, культуральная жидкость

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Уфимцева О.В.,

Сибирский государственный технологический университет,  
Красноярск

становится нетекучей в результате гелирования, при культивировании в глубинных условиях мицелий вешенки не выделяет в среду гелирующих агентов-полисахаридов. Вязкость культуральной жидкости в этих условиях даже при достижении максимального накопления биомассы существенно не изменяется.

В отличие от мицелия, выращиваемого в поверхностных условиях и представляющего собой по структуре губчатую ткань переплетенного и сросшегося мицелия, глубинный мицелий представлен в основном единичными, хотя и достаточно длинными гифами.

Анализ полученной биомассы показал высокое содержание в ней белка (до 38–40% а.с.м).

Был также изучен аминокислотный состав белка. Результаты показали, что белки лимитированы, в первую очередь, по триптофану (отсутствует в обеих культурах).

Например, в белке мицелия вешенки значительно меньше по сравнению с эталонным белком метионина и цистина (18%), затем — тирозина (68%) и изолейцина (85%). Зато значительно больше, чем в эталонном белке, лизина (130%), лейцина (120%), валина и фенилаланина (148%), соответственно.

В целом можно считать, что белки мицелия серно-желтого трютовика и, особенно, вешенки характеризу-

ются высоким содержанием особо ценных незаменимых аминокислот.

Кроме того, биомасса мицелия имеет достаточно благоприятный минеральный состав. Отсутствуют тяжелые металлы, обладающие токсичностью. Молибден, никель, кобальт, хром и кадмий находятся в количествах, не превышающих допустимых норм.

Сравнение удельных скоростей роста мицелия и дрожжей показывает, что у мицелия скорость накопления биомассы в 4–5 раз меньше, чем у дрожжей, однако в десятки раз выше, чем по технологии получения плодовых тел. Следует также учитывать, что стоимость получаемой биомассы в 15–20 раз выше, чем стоимость кормовых дрожжей.

Следовательно, технология производства б/м мицелия на основе типовой технологии микробиологических производств будет достаточно рентабельной. Таким образом, результаты данной работы показывают перспективность разработки технологий получения биомассы глубинного мицелия с целью его использования в качестве белковых пищевых добавок.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## ПОЛУЧЕНИЕ КЛОНИРОВАННЫХ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ИЗ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ В КАЧЕСТВЕ ЦИТОПЛАСТОВ ООЦИТОВ, ДОЗРЕВАВШИХ IN VITRO

А.Г. ЛОГИНОВ\*, К.В. КИРИЕНКО, И.Г. СМЕТАНИНА,  
Л.В. ТАТАРИНОВА, А.С. АЛГУЛЯН, В.П. РЯБЫХ

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных РАСХН,  
Боровск*

Для ускорения селекционного процесса сельскохозяйственных животных путем клонирования наибольший интерес представляет клонирование крупного рогатого скота. Однако этот вид животных является малопродуктивным, а для получения клонированных животных требуется большое количество яйцеклеток.

Одним из путей получения необходимого количества яйцеклеток крупного рогатого скота является дозревание ооцитов *in vitro*. Однако определенная часть яйцеклеток, полученных *in vitro*, имеет более низкую жизнеспособность, по сравнению с яйцеклетками, полученными *in vivo*. В связи с этим возникает необходимость в изучении возможности использования яйцеклеток, полученных *in vitro*, в технологии клонирования животных.

Целью исследований являлось определение репрограммирующих свойств цитопластов, полученных из ооцитов крупного рогатого скота, дозревавших *in vitro*, при использовании в качестве кариопластов ядер соматических клеток.

Дозревание ооцитов крупного рогатого скота *in vitro* осуществляли по методике отработанной в лаборатории. Через 19–20 часов после постановки на дозревание с ооцитов удаляли клетки кумулюса и отбирали для дальнейшей работы ооциты с выделившимся полярным тельцем. Энуклеацию ооцитов и реконструирование клеток осуществляли микрохирургическим методом

(Mc Grath, Solter, 1983). На установке, включающей в себя комплект микроманипуляторов фирмы «Narishiga» и инвертированный микроскоп типа «Diaphot-TMD» фирмы «Nikon», оснащенный оптикой дифференциально-интерференционного контраста (DIC по Номарскому).

В качестве кариопластов использовали свежеполученные клетки кумулюса округлой формы, размером 10–12 мкм, большая часть которых в это время находится в фазе G<sub>0</sub> клеточного цикла. Единичные кумулюсные клетки инъецировали в перевитилиновое пространство энуклеированных ооцитов, используя прокол, образованный в блестящей оболочке при энуклеации.

Слияние цитопласта с кариопластом осуществляли с помощью контроллера электрослияния (ИБП РАН, г. Пушкино) в камере с параллельными электродами в среде Циммермана тремя последовательными прямоугольными импульсами постоянного тока напряжением 1,5–2,0 кВ/см, продолжительностью 10 мксек. Через 1–1,5 часа после установленного слияния проводили активацию слившихся клеток кальциевым ионофором A23187 (2 мкМ) в среде MEM+BSA в течение 3 минут с последующим культивированием в среде MEM+BSA, содержащей 10 мМ диметиламинопурина (6-DMAP), в течение 3 часов.

Культивирование реконструированных клеток проводили в каплях под маслом, на фидерном слое из клеток кумулюса коровы, при 38,5 °С в увлажненной атмосфере воздуха с 5% CO<sub>2</sub>, первые 48 часов – в среде DMEM+BSA, а затем в среде DMEM +10% FCS.

Эффективность энуклеации ооцитов крупного рогатого скота составила 90,0% (230/256), эффективность слияния – 49,5% (114/230).

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Логинов А.Г.,

ВНИИ физиологии, биохимии и питания  
сельскохозяйственных животных РАСХН,  
Боровск

---

Установлено, что при культивировании реконструированных клеток в газовой фазе воздух + 5% CO<sub>2</sub> развитие основной массы эмбрионов останавливалось на стадии 8–16 бластомеров и только небольшая часть их (4,3%) достигала стадии морулы.

Однако при культивировании реконструированных клеток в той же газовой фазе, но на фидерном слое, состоящем из клеток кумулюса, 67,5 (50/74) реконструированных клеток развивалось до стадии 2–4 бластомеров, стадии 8–16 бластомеров достигали 52,7% (39/74) эмбрионов, 50,0% (37/74) — достигли стадий морулы/бластоцисты. При этом через 146 часов культивирования 35,1% (26/74) эмбрионов находились еще на стадии морулы и 14,9% (11/74) достигали стадии бластоцисты. Этот факт свидетельствует о необходимости дальнейшего улучшения условий культивирования после 96 часов развития клонированных эмбрионов *in vitro*.

Таким образом, проведенные исследования показали, что цитопласты, полученные путем энуклеации ооцитов крупного рогатого скота, дозревающих *in vitro* 19–20 часов, способны репрограммировать кариопласты соматических клеток и обеспечивать их развитие, по крайней мере, до стадии морулы/бластоцисты.

Использование фидерного слоя из клеток кумулюса позволяет культивировать реконструированные клетки до стадии морулы/бластоцисты в атмосфере воздуха с 5% CO<sub>2</sub>, что дает возможность в определенной степени обойтись без дорогостоящей трехкомпонентной газовой смеси.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*



## ГИДРОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ ИЗ ОТХОДОВ ПЕРЕРАБОТКИ РЫБ ВОЛГО-КАСПИЙСКОГО БАССЕЙНА

М.Д. МУКАТОВА\*, Р.Р. УТЕУШЕВ, Н.А. КИРИЧКО

*Астраханский государственный технический университет,  
Астрахань*

Получение ферментов и их применение в технологических процессах переработки растительного и животного сырья, в том числе водного происхождения является одним из направлений биотехнологии.

На сегодняшний день большое внимание уделяется получению и применению ферментов, катализирующих гидролитическое расщепление углеводов, белков, жиров, имеющих наибольшее значение в современных промышленных технологических процессах.

Гидролазы находят широкое применение при производстве пищевой и кормовой продукции, в частности при получении легко усваиваемых пищевых и кормовых гидролизатов, использование которых позволяет производить сбалансированные по макро и микронутриентам (аминокислотному, жирнокислотному, минеральному и витаминному составу) продукты.

Традиционное получение гидролитических ферментов осуществляется микробиологическим способом при использовании микроорганизмов, являющихся продуцентами, или химическим способом, посредством синтеза определенных химических веществ, что способствует удорожанию ферментов.

В связи с этим все большее внимание уделяется разработке технологий получения ферментов из природного сырья, позволяющим снизить экономические затраты.

Одним из путей решения указанной проблемы является получение гидролитических ферментов из природного сырья водного происхождения, в частности из вторичных сырьевых ресурсов рыбоперерабатывающих предприятий.

На сегодняшний день в изменившихся условиях сырьевой базы рыбной отрасли перспективны комплексные технологии переработки имеющегося сырья, предусматривающие использование всех частей тела рыб, в том числе внутренних органов, извлекаемых в процессе разделывания. Традиционно внутренности от разделки рыб вместе с другими отходами производства направляются на кормовую продукцию.

Однако данное сырье можно использовать в качестве источника получения ферментов, так как ферментативная система внутренних органов рыб (кишечника, желудков) отличается высокой активностью, и после выделения из них ферменты не утрачивают способность осуществлять каталитические функции.

Исходя из выше изложенного, перспективным является получение гидролитических ферментов из внутренних органов частиковых и растительных видов рыб Волго-Каспийского бассейна и практическое их применение в рыбообработывающей промышленности. В рамках поставленной проблемы в научно-исследовательской лаборатории «Пищевая биотехнология и БАВ» были проведены научные исследования по получению комплекса протеиназ из желудков сома и применению его при депротенировании панцирьсодержащего сырья речных раков для получения хитина.

Комплекс протеиназ представляет собой жидкость светло-коричневого цвета и имеет активность 3,2 ед./г. Важной особенностью ферментного препарата — комплекса протеиназ является то, что при проведении технологических процессов нет необходимости создавать искусственные смеси ферментных препаратов, так как в нем уже присутствуют несколько гидролаз. Кроме того, для гидролиза природных полимеров белковых веществ, пригодны комплексные ферментные препараты невысокой степени очистки. Помимо использования комплекса протеиназ в переработке панцирьсодержащего

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Мукатова М.Д.,

Астраханский государственный технический университет,

Астрахань

---

сырья ракообразных он может быть применен также при производстве новых видов рыбной продукции из слабосозреваемого сырья.

Наряду с получением и применением комплекса гидролитических протеиназ в научной лаборатории были проведены исследования по выделению фермента липазы из желудков и кишечника частиковых и растительноядных видов рыб методом осаждения с помощью охлажденного ацетона.

Ферментный препарат — липаза представляет собой сухой порошок светло-коричневого или темно-коричневого цвета с относительной влажностью не более 13%, предназначен для гидролиза жира и может найти применение в производстве вяленой и копченой продукции из слабосозревающих видов рыб. Кроме

того, известно, что липазы успешно применяются при получении натурального шелка.

Таким образом, при решении важных проблем пищевых рыбообрабатывающих предприятий по созданию и внедрению комплексных технологий переработки рыбного сырья, ферментные препараты из него могут оказать решающую роль. С помощью ферментных препаратов можно интенсифицировать технологические процессы, расширить ассортимент как пищевой, так и кормовой рыбной продукции и повысить степень очистки технической продукции — хитина от азотистых веществ.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЭМБРИОНАЛЬНО-СУСПЕНЗОРНОЙ МАССЫ И СОМАТИЧЕСКИХ ЗАРОДЫШЕЙ ЛИСТВЕННИЦЫ СИБИРСКОЙ (*LARIX SIBIRICA*) И СОСНЫ СИБИРСКОЙ (*PINUS SIBIRICA*) В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

И.Н. ТРЕТЬЯКОВА\*, А.С. БЕЛОРУССОВА, С.С. САВЕЛЬЕВ,  
А.В. ЛУКИНА, М.Е. ИЖБОЛДИНА

*Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН,  
Красноярск*

На основании свойства тотипотентности растительных клеток в биотехнологии микрклонального размножения хвойных появилось новое направление — соматический эмбриогенез, представляющий собой асексуальный способ размножения, приводящий к формированию зародыша из соматических клеток. Изучение соматического эмбриогенеза открывает большие перспективы в познании клеточной дифференцировки и реализации морфогенетических программ в процессе эмбриогенеза, а также получения высокопродуктивных генетически однородных чистых линий хвойных растений.

Для индукции соматического эмбриогенеза у сибирских видов хвойных: лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) и сосны сибирской (*Pinus sibirica* Du Tour.) использовались мегагаметофиты зиготические зародыши на разных стадиях формирования. Стерилизация эксплантов проводилась гипохлоритом натрия или раствором йода. Экспланты лиственницы сибирской помещались на среду MSG, сосны сибирской — на среды MS,  $1/2$  MS, LV и  $1/2$  LV, с добавлением гормонов 2,4-D и 6-БАП, а также L-глутамин и мезоинозита в различных концентрациях. Для цитологического анализа готовили давленные препараты, окрашенные сафранином с добавлением метиленового синего.

Проведенные исследования показали, что успешное формирование эмбрионально-суспензорной массы

у лиственницы сибирской и сосны сибирской зависит от срока сбора семян и стадии введения зародышей в культуру. Получение эмбриональной массы и соматических зародышей у лиственницы сибирской наиболее успешно происходило из незрелых зиготических зародышей, введенных в культуру, начиная с предсемядольной стадии развития (примордии семядолей не различимы), и заканчивая стадией, когда семядоли уже развиты. Формирование эмбрионально-суспензорной массы (ЭМ) у таких зародышей начиналось в области зародышевого корешка прилегающего к суспензору уже на 5–10-е сутки культивирования. ЭМ состояла из крупных вытянутых сильно вакуолизированных клеток — эмбриональных трубок и примыкающих к ним округлых активно делящихся клеток, составляющих эмбриональные глобулы.

Во время пролиферация эмбриональной массы происходило увеличение размеров клеточных конгломератов и выделение из эмбриональной массы соматических зародышей. Полученные соматические зародыши имели биполярную структуру, на одном конце которых формировался развитый суспензор, а на другом — эмбриональная группа клеток. Структура соматических зародышей аналогична зиготическим зародышам лиственницы сибирской *in vivo*.

Различные генотипы деревьев лиственницы сибирской значительно отличались по способности к формированию эмбриональной массы и соматических зародышей.

У сосны сибирской формирование ЭМ и развитие соматических зародышей также зависело от стадии развития экспланта при введении его в культуру *in vitro*. Культивирование мегагаметофитов сосны сибирской на

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Третьякова И.Н.,

Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН,

Красноярск

---

стадии оплодотворения и глобулярной стадии развития половых зародышей показало, что на микропиллярном конце происходило формирование каллусной массы на 7–15 сут. культивирования.

Клетки, составляющие каллус, были однородными, без всяких признаков дифференциации. В течение 3–5 недель происходил активный рост каллуса — первоначальная масса экспланта увеличивалась, как правило, в 4–8 раз.

При введении в культуру незрелых изолированных зародышей на предсемядольной и более поздних стадиях развития образование ЭМ и соматических зародышей происходило у 7–10% эксплантов.

Активное образование ЭМ у сосны сибирской наблюдалось при обработке семян низкими положительными температурами. При этом одного месяца стратификации оказалось достаточно для активной инициации соматического эмбриогенеза у данного вида.

Таким образом, впервые был получен эмбриогенный каллус и соматические зародыши из половых зародышей лиственницы сибирской и сосны сибирской. Соматический эмбриогенез у лиственницы сибирской наиболее активно шел из незрелых зародышей на предсемядольной стадии развития.

Культивирование таких зародышей в течение двух месяцев приводило к формированию соматических зародышей имеющих те же морфологические черты, что и зиготические зародыши лиственницы сибирской *in vivo*. У сосны сибирской предварительная обработка семян низкими положительными температурами оказала положительное влияние на формирование эмбриогенного каллуса и соматических зародышей.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННЫХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ НА МИКРОБНЫЕ ПОПУЛЯЦИИ В ЭКСТЕНСИВНЫХ СИСТЕМАХ

Е.В. СИМОНОВА\*

*Иркутский государственный медицинский университет,  
Иркутск*

Научно-хозяйственная деятельность человека преобразует среду обитания, при этом ее последствия не всегда носят положительный эффект, что определяется огромным количеством поступающих в природную среду загрязнителей антропогенного происхождения. При этом основной рост загрязнений связан не просто с увеличением численности человечества, а с «технологическим взрывом», быстрым количественным ростом незамкнутых технологических процессов в промышленном производстве.

Остановить развитие технического прогресса невозможно и бессмысленно, поэтому человеку необходимо изменить отношение к природной среде, учитывая ограниченность ее способности к самоочищению. В перспективе — это разработка замкнутых безотходных технологий, а ближайшая непосредственная задача — интенсификация имеющихся и разработка новых путей борьбы с антропогенным загрязнением.

Целью данного исследования явилось изучение структурных изменений в микробиоценозах в зависимости от условий хранения лигнина, поступающего в виде твердых отходов с предприятий целлюлозно-бумажной промышленности в шлам — накопители.

Анализ фактического материала, полученного в натурных исследованиях, показал, что шлам-лигнин карт накопителей, подвергающихся процессу рекультивации, характеризуются токсичностью. Формирование токсических веществ в шлам-лигнине происходит в процессе его деструкции. На это указывают данные о высокой вариабельности токсичности шлам-лигнина, отобранного из разных карт накопителей, что обусловлено

только переменным составом химических компонентов, присутствующих в шлам-лигнине. Исходя из представлений о безопасном уровне воздействия загрязнителей природной среды по показателям, принятым в санитарной микробиологии шлам-лигнин, подвергавшийся рекультивационному воздействию, следует охарактеризовать как высоко токсичное соединение. При этом не исключено, что уровень биологической активности может возрасти при его дальнейшей метаболической трансформации в экстенсивном процессе.

Наряду с этим неодинаковая степень чувствительности к нему со стороны разных систематических групп указывает на то, что роль микроорганизмов в биодеструктивных процессах также неоднозначная. Процесс трансформации лигнина в природе при участии микробных сообществ неизбежен и определяется только фактором времени формирования активного микробиоценоза способного с высокой степенью вести деградационные процессы. Поэтому, чтобы воздействовать на этот процесс и управлять им в нужном направлении, необходима целенаправленная подборка биологических деструкторов с направленным метаболическим процессом в нужном направлении с учетом экологических проблем.

В связи с вышесказанным следует остановиться на возможности ускорения процесса разложения техногенов, непосредственно вытекающих из свойств микроорганизмов. Она связана с мобилизацией ферментативных способностей микроорганизмов, с использованием свойства кометаболизма. По отношению к деградации чужеродных соединений суть его заключается в том, что реакция трансформации какого-либо труднодоступного вещества осуществляется только лишь в присутствии и при использовании ростового субстрата определенной структуры. За счет последовательно метаболизирующих промежуточных продуктов происходит полная

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Симонова Е.В.,

Иркутский государственный медицинский университет,

Иркутск

---

деградация. Это сочетание метаболизирующей функции с кометаболизмом, т.е. согласованного взаимодействия клеточного и популяционного уровней, несет в себе большие возможности интенсификации процессов очистки природной среды. Использование либо смеси микробных культур, либо внесение дополнительного источника энергии делает возможным деградацию практически любого трудно разрушаемого загрязнителя.

Экологический эффект кометаболизма трудно переоценить. Именно в условиях соокисления трудно разрушаемые ксенобиотики могут быть атакованы и трансформированы микроорганизмами. В связи с этим необходимо кинетическое изучение популяционных и экологических аспектов с применением открытых систем и получением количественных данных.

Для увеличения скорости разложения загрязнителей микробными популяциями пригодны стандартнее «популяционные методы»: увеличение скорости разложения и численности популяции. Конкретные пути могут быть различными, это и изменение условий среды, путем внесения дополнительных питательных веществ микроорганизмам, обитающим в почве, инокуляция новых, специально отобраных форм и т.д.

При работе экстенсивных систем очистки микробы также являются главным трансформирующим фактором. Серьезную опасность здесь представляет накопление различных биоцидов, активно воздействующих на биологические процессы. Помимо мер, связанных с разработкой и применением быстро разрушаемых ксе-

нобиотиков, серьезную перспективу имеют изучение и использование методов интенсификации их разложения микроорганизмами.

Кроме того, основным выводом данной работы следует считать необходимость дальнейшего расширения исследований по выявлению не только промышленных токсикантов, но и мутагенов и это должно стать предметом их изучения не только в отдельных научных работах, а также системой мониторинговых исследований. Подходы к тестированию техногенных загрязнителей должны постоянно развиваться, что позволит пойти по пути разработки профилактических мероприятий индуцированных токсических и генетических поражений, и принятия адекватных решений соответствующих социально-экономическому развитию общества.

Вместе с тем оценка качества природных объектов, подверженных техногенному воздействию — не самоцель, а основа для разработки норм, регламентирующих степень и характер воздействия отдельных видов деятельности человека на природные водоемы. Только получив ответ на вопрос, о воздействии техногенов на природные биоценозы, можно будет решать эколого-гигиенические вопросы, связанные со снижением их негативного воздействия. Выполненные исследования имеют природоохранную направленность.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*



## БИОТЕХНОЛОГИЯ КАК ОСНОВНОЙ ПОДХОД В ПРОИЗВОДСТВЕ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

И.В. НЫНЬ\*

ФГУП Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов ФМБА,  
Санкт-Петербург

Защита населения страны от инфекционных заболеваний вирусной и бактериальной природы — важнейшая проблема здравоохранения России. Частые случаи появления вспышек болезней выводят из трудовой сферы, порой на длительное время, сотни тысяч людей, что наносит большой экономический ущерб государству.

Совершенно очевидно, что наиболее эффективным способом профилактики этих заболеваний является вакцинация, а из этого следует, что разработка технологии получения вакцин весьма актуальна не только с медицинской, но и экономической точки зрения.

Рассмотрим суть такой разработки на примере получения генноинженерной вакцины против гепатита В на основе рекомбинантного антигена этого вируса (rHBsAg) с использованием в качестве продуцента специального штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

Поскольку в России заболеваемость гепатитом В в последние десять лет выросла вдвое и составляет в различных регионах от 30 до 50 человек на 100 тысяч населения, следует ожидать, что спрос на новую вакцину будет расти и впредь.

В условиях промышленного производства рекомбинантных вакцин большое значение имеет разработка режима консервации, при котором должны быть сохранены все биологические свойства продуцентов. Способ хранения генно-инженерных продуцентов должен не только обеспечивать стерильность, жизнеспособность,

активность в течение длительного времени, возможность быстрой и щадящей реактивации клеток, но и удовлетворять ряду требований, предъявляемых ВОЗ к рекомбинантным штаммам.

В работе использовали штаммы дрожжей *Sacch. cerevisiae* Y1729, D1589-1, D1596 и T1597 — продуцентов rHBsAg, причем максимальный срок наблюдения составил 10 лет, 3 года, 2 года и 6 месяцев, соответственно.

Результаты проведенных исследований дали основания рекомендовать режим промышленного хранения штаммов — продуцентов rHBsAg.

Показано, что хранение продуцентов при  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  и  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  обеспечивает их стабильность, причем замораживание объекта должно проводиться быстро при температуре  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Установлено, что минимальная концентрация клеток в посевном материале, оставленном на хранении, должна быть не менее, чем 10<sup>9</sup> кл/мл, а оживление культуры продуцента целесообразно проводить в среде Нр1 с постепенным подъемом температуры до 30 °С.

С целью оптимизации синтеза гетерологического белка rHBsAg в клетках дрожжей — сахаромикетов изучены основные параметры культивирования продуцентов.

Для выполнения этого этапа работы нами были выбраны два штамма — Y1729 и D1589-1. Штамм D1589-1 не имел скрытой фазы роста. Клетки начинают делиться непосредственно после засева, при этом время удвоения их количества составляло 1,5 ч. Выход на стационарную фазу роста происходил через 8–10 часов при максимальном урожае клеток 2,4–10 кл/мл. Штамм Y1729 имел скрытую фазу роста около 4-х часов, удвоение количества клеток происходило через 2 ч

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Нынь И.В.,

ФГУП Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов ФМБА,  
Санкт-Петербург

при  $\mu = 0,28 \text{ ч}^{-1}$ . К 8–10 часам роста количество клеток составляло  $1,7 \cdot 10^7 - 4,0 \cdot 10^7$  кл./мл.

Быстрый рост количества клеток штамма D1589-1, сопровождаемый интенсивным синтезом антигена, позволил сократить время стадии синтеза гНВsAg и, следовательно, всего цикла промышленного культивирования в среднем на 10 ч.

Получены данные, определяющие параметры культивирования производственных штаммов — продуцентов антигена вируса гепатита В в промышленных условиях: начальная концентрация компонентов среды, рН, динамика подачи кислорода, температура, исходная концентрация клеток дрожжей.

После отработки режима реакторного культивирования и генетико-биохимического анализа продуцентов чрезвычайно важно было охарактеризовать устойчивость полученного материала при хранении и очистке.

Полученный материал исследовался в двух направлениях — стабильность дезинтеграта клеток в процессе хранения и сохраняемость целевого продукта в процессе очистки.

Схема очистки дезинтеграта включала стадию осаждения балластных примесей сульфатом аммония (при различных концентрациях) и альтернативные стадии адсорбционной хроматографии на стекле или цикл седиментационной очистки на промышленных проточных центрифугах. В обоих вариантах технология очистки гНВsAg антигена завершалась этапом очистки с помощью хроматографии. С целью изучения стабильности целевого продукта антиген осаждали сульфатом

аммония с последующим хранением преципитата, причем активность сохранялась в течение месяца.

Конечной стадией осветления дезинтеграта является очистка на промышленной ультрацентрифуге К-II фирмы «Electronucleonics Inc». Центрифугирование проводили в проточном режиме с использованием сердечника К-3 при 40000 g, скорости потока 5–10 л/час и температуре 8–10 °С. При этом флотирующие примеси осаждались на сердечнике, а другие (плотнее 1,0) оставались на стенке ротора.

После концентрирования ультрафильтрацией на мембране предельная молекулярная масса пропускаемой фракции антигена составляла 100 кД и содержала компоненты с массой 23 и 46 кД. Эти компоненты были идентифицированы как белковые составляющие гНВsAg.

Известно, что при уровне антител  $> 100 \text{ мМЕД}$  обеспечивается стойкий иммунитет на срок до 5 лет. При определении иммуногенности трех серий вакцины против гепатита В оказалось, что при введении антигена в дозе 2,5 и 0,83 мкг/мл уровень антител был высоким: не менее 150 мМЕД/мл.

Предложенная нами технология получения вакцины против гепатита В обеспечивает, как показали приведенные выше данные, необходимый уровень иммуногенности, способный гарантировать эффективность вакцины.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## ЭКОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РЫБ СЕМЕЙСТВА ЛОСОСЕВЫХ, ВЫРАЩЕННЫХ В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА

С.И. ОВЧИННИКОВА\*, Л.А. ПОХОЛЬЧЕНКО, О.В. МИХНЮК, О.Г. КРИВЕНКО,  
Е.Б. СМЕРНОВА, А.Н. МАТВЕЕВ, Р.О. ИГУМНОВ

*ФГОУ ВПО «Мурманский государственный технический университет»,  
Мурманск*

Актуальной задачей современной экологической биохимии и биотехнологии ценных видов рыб является поиск и анализ биохимических механизмов, которые обеспечивают нормальное существование и адаптационные возможности гидробионтов в условиях антропогенного стресса.

Усиление негативной антропогенной нагрузки на водные экосистемы Кольского Севера снижает их биологическую продуктивность.

Культивирование промысловых ценных рыб как актуальное направление биотехнологии является одним из перспективных и быстроразвивающихся современных направлений рыбного хозяйства, которые позволяют решить проблему восстановления и сохранения водных биоресурсов.

На кафедре биохимии биологического факультета Мурманского государственного технического университета проводятся комплексные систематизированные биохимические исследования рыб семейства Лососевых, диких и выращенных в условиях искусственного воспроизводства.

Объектами исследования являются такие ценные рыбы, как форель радужная и лосось атлантический.

Форель пресноводная разводится в садках на реке Тулома, форель морская — в садках форелевых ферм на Белом море.

Анализируется также заводская молодь семги от производителей атлантического лосося (река Умба, река

Кола) и акселерированная молодь атлантического лосося морского садкового хозяйства в губе Печенга на Баренцевом море, выращенная индустриальным способом из норвежской икры.

Проводится комплекс морфологических исследований, включающий определение размерных характеристик, массового состава исследуемых рыб.

Изучается влияние такого важного фактора, как соленость морской воды на размерно-массовые характеристики рыб семейства Лососевых, выращенных в условиях искусственного воспроизводства.

Анализируются химические показатели и биохимические свойства данных гидробионтов на разных стадиях жизненного цикла.

Изучаются динамики содержания воды, общего азота, белкового азота, небелкового азота, аминного азота, водорастворимой белковой фракции, липидов, углеводов, макроэнергических соединений, минеральных веществ в тканях гидробионтов.

Исследуется активность тканевых протеолитических ферментов, химические показатели качества тканевых жиров.

Особое внимание уделяется такому биохимическому показателю, как каротиноиды. Они представляют собой естественные антиоксиданты в тканях лососевых рыб и играют активную роль в биохимической адаптации организмов гидробионтов к условиям обитания. Для определения содержания каротиноидов в исследованиях использовался спектрофотометрический метод.

Проводится сравнительный биохимический анализ пресноводной и морской форели, а также сравнительные исследования биохимического статуса лосося атлантического (молоди), выращенного в условиях искусственного воспроизводства и дикой молоди.

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Овчинникова С.И.,

кафедра биохимии биологического факультета

Мурманского государственного технического университета,

Мурманск

---

Актуальным направлением является изучение влияния низких температур на особенности химического состава тканей радужной форели, морской и пресноводной, лосося атлантического (молоди).

Эколого-биохимические исследования рыб на молекулярном уровне, несомненно, актуальны. Многофакторный анализ изменений биохимических параметров при воздействии антропогенного стресса является необходимым условием для создания комплексной системы мониторинга и тестирования водных экосистем Северного бассейна.

Полученные результаты могут быть использованы в практических целях при разработке рекомендаций для специалистов, занимающихся проблемами культивирования рыб семейства Лососевых, для решения вопросов воспроизводства ценных видов рыб в условиях возможного уменьшения промысловых биоресурсов.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*

## СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ *BACILLUS THURINGIENSIS*

Т.И. ПАТЫКА\*, Н.В. КАНДЫБИН

Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,  
Санкт-Петербург

Представлены научно-методические подходы совершенствования технологий создания препаратов на основе природных энтомопатогенов *Bacillus thuringiensis* — как продуцентов биологически активных веществ и агентов препаратов фитозащитного действия.

Концептуальным направлением развития микробных биотехнологий в сельском хозяйстве является поиск новых микроорганизмов и создание оригинальных технологических процессов для получения новых биопрепаратов, биоудобрений различного сельскохозяйственного назначения, что возможно и особенно целесообразно осуществлять на основе новейших микробиологических, биохимических, молекулярно-генетических знаний и методологий.

Наше общество в настоящее время вступило в фазу накопленных фундаментальных и технологических знаний в сельскохозяйственном природопользовании.

В последние годы определяющими параметрами развития растениеводства в XXI столетии будут биологизация и экологизация процессов на основе адекватной замены техногенных факторов биологическими процессами, повышения продукционных, средоулучшающих, восстанавливающих функций агроэкосистем.

Микробиометод защиты растений и, в частности, использование микробных препаратов на основе энтомопатогенных бактерий *Bacillus thuringiensis* (Bt), при грамотном его использовании позволяет надежно регулировать количество вредоносных насекомых, имеет ярко выраженную экологическую и социальную приоритетность, поскольку биопрепараты на основе этих бактерий

являются экологически безопасными альтернативами пестицидов химического синтеза, которые загрязняют окружающую среду и угрожают здоровью людей.

Для получения биопрепаратов на основе Bt, как правило, используют штаммы энтомопатогенов, выделенные из природных популяций насекомых.

Наряду с этим ведутся исследования по конструированию рекомбинантных штаммов — продуцентов энтомотоксинов, активных против насекомых-фитофагов.

Разнообразие биологических особенностей штаммов Bt (часто и в пределах одного сероварианта) значительно отличается по инсектицидной активности и токсичности продуцируемых ими белков и других метаболитов.

Целенаправленным скринингом нами отобраны культуры энтомопатогенных бактерий Bt, выделенные из разных природных популяций насекомых, обладающие комплексом потенциально полезных для агрофитоценозов свойств (наличие высокоактивных энтомоцидных метаболитов, полифункциональным действием на растения и экологической безопасностью).

Разработаны методологические подходы и биотехнологические приемы длительного хранения жидких и пастообразных форм биопрепаратов с использованием различных консервантов.

Определены условия получения качественного спорowego посевного материала путем оптимизации питательных сред и режимов культивирования, что позволяет сокращать сроки культивирования и одновременно получать высокие титры спор и энтомоцидных метаболитов.

Известно, что для производства биопрепаратов на основе разных серотипов Bt требуются определенные технологические режимы: состав питательных сред, обеспечивающих получение максимальных титров бактерий и их метаболитов; синхронность размножения

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Патыка Т.И.,

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,  
Санкт-Петербург

---

и спорообразования; оптимальное соотношение спор и кристаллического эндотоксина; высокая энмоцидность. Соблюдение перечисленных параметров создания биопрепаратов на основе Vt H<sub>1</sub>, Vt H<sub>10</sub>, Vt H<sub>14</sub> позволило нам получить образцы соответствующих биопрепаратов высокого качества и активности.

Таким образом, полученные сведения и технологические разработки могут быть использованы в области

промышленного-крупномасштабного и регионального-малотоннажного производства и, особенно, в совершенствовании технологии применения микробиопрепаратов для защиты растений от фитофагов.

*Материалы IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 6–7 декабря 2006 г.*



## ПОКАЗАТЕЛЬ ГИДРОФОБНОСТИ КЛЕТОК В ОТБОРЕ ШТАММОВ-ДЕСТРУКТОРОВ ПРИ БИОСТИМУЛЯЦИИ IN VITRO

А.А. САМКОВ\*, Н.Н. ВОЛЧЕНКО, Э.В. КАРАСЕВА

*Кубанский государственный университет, Краснодар*

Применение микробиологических методов очистки нефтезагрязненных сред требует как универсальных комплексных биопрепаратов, так и подобранных нефтеокисляющих микроорганизмов из состава профилированных коллекций. Отбор штаммов для рекультивации через биоаугментацию *in vitro* проводится с учетом ряда штаммоспецифичных признаков, в качестве которых могут выступать деструктивная активность в отношении ряда индивидуальных углеводов, а также коммерческих нефтепродуктов, морфотип колоний, температурный оптимум, устойчивость к ряду токсических веществ, в т.ч. солям тяжелых металлов, оптимум рН, скорость продукции биомассы и др.

Показатель гидрофобности (ПГ) клеток отражает свойства клеточной поверхности микроорганизма — деструктора, обеспечивающие при обработке загрязненного нефтепродуктами грунта либо почвы, комплекс взаимодействий с окружающей средой, а также гидрофобным поллютантом. От ПГ зависят стабильность клеточной суспензии в растворе и способность к флокуляции.

Для выборки из 49 штаммов коллекции кафедры генетики, микробиологии и биотехнологии КГУ, отобранных на основании высокой нефтеокисляющей активности, обнаружена зависимость между признаками ПГ и способностью к деструкции мазута. В зависимости от морфотипа колоний при росте на питательном агаре выборка разбита на группы R-, S- и M-штаммов. Для группы R-штаммов отмечена обратная зависимость между ПГ и способностью к деструкции мазута, для M-штаммов — прямая. В случае S-штаммов корреляция отсутствовала. Учет ПГ наряду с морфотипом колоний позволяет выявить наиболее эффективные штаммы в составе выборок.

ПГ клеток является важнейшим фактором, определяющим адсорбционную иммобилизацию микроорганизмов на различных поверхностях. Обнаружено влияние ПГ клеток на их задержку в нефтезагрязненном песке

и почве в условиях интенсивного конвективного переноса. Водные суспензии клеток штаммов *Rhodococcus erythropolis* F1 и *Rhodococcus sp.* J8 пропускали через колонки, заполненные загрязненным нефтью песком либо черноземной почвой. Первый штамм обладал ПГ клеток — 24%, второй — 88%.

Перенос микробных клеток как *Rh. erythropolis* F1, так и *Rhodococcus sp.* J8 в нефтезагрязненном песке и почве происходил интенсивнее по сравнению с интактными незагрязненными образцами, причем, вымывание микроорганизмов каждого из штаммов из песка происходило более активно, чем из почвы. Отмечена небольшая доля клеток штамма с меньшим ПГ — *Rh. erythropolis* F1, задержавшихся в загрязненном нефтью песке и почве — 2,4 и 5,9%. Задержка клеток штамма *Rhodococcus sp.* J8, имеющего ПГ 88%, многократно превысило долю задержавшихся клеток *Rh. erythropolis* F1 в аналогичных условиях и составило 66,5 и 61,4% для нефтезагрязненного песка и почвы.

Итак, выбор штаммов с различным ПГ должен учитывать конвективный перенос клеток током влаги. Происходящее из-за этого переноса вертикальное перераспределение биомассы имеет как позитивный эффект, заключающийся в инокуляции нефтезагрязненного почвогрунта на большую глубину, так и негативный, проявляющийся в выносе клеток биопрепарата из зоны очистки.

Использование избыточного количества гексадекана при глубинном культивировании *Rh. erythropolis* F1 позволило гидрофобизировать поверхность клеток, но наличие большого количества углеводорода, солюбилизированного клеточной стенкой родококка, а также остаточного гексадекана, обусловило образование крупных флокков биомассы за счет гидрофобного взаимодействия клеток. Увеличение ПГ клеток за счет использования избыточного гидрофобного источника нарушает стабильность суспензии, что уменьшает равномерность распределения биомассы при последующей обработке нефтезагрязненного объекта *in situ* и снижает эффективность последней. Альтернативный вариант — выявление микроорганизмов, обладающих высокой штаммоспецифичной гидрофобностью.

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Самков А.А.,

Кубанский государственный университет, Краснодар

## К 80-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ПОЛА БЕРГА. ЗАВЕРШЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ГОНКИ ЭРЫ ДНК

О.В. ВОРОБЬЕВА, В.С. ВОРОБЬЕВ\*

*Общество биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова, Москва*



30 июня 2006 г. исполнилось 80 лет со дня рождения Пола Берга, известного американского биохимика, на долю которого пришлось совершить финишный забег в длительной эстафете выдающихся умов, расшифровывавших тайны основных законов молекулярной генетики. В 1972 году после синтеза им рекомбинантной ДНК все стало на свои места в теории гена и началась эпоха практической реализации — современной биотехнологии. На долю коллег и последователей оставался только перебор вариантов различных генетических комбинаций, а практикам — патентование изобретений и развитие бизнеса. Далее открывалась

перспектива точного изучения структуры генома и наступления постгеномной эры. Но что особенно важно и с исторической и с фактической точки зрения: это искренний страх триумфатора за последствия, которые может вызвать легкость внедрения человека в святую святых жизни, что и привело ученого к Асиломару (об этом подробнее — ниже).

Краткая биография исследователя такова [9, 11]. Пол Берг родился в Нью-Йорке (Бруклин) в семье выходцев из России (по линии отца). В 1943 г. окончил школу Авраама Линкольна. Учился в Университете штата Пенсильвания, который окончил в 1948 г. (с 3-летним перерывом в занятиях в связи с участием во Второй Мировой войне). В 1950—1952 гг. работал научным сотрудником в Национальных институтах здоровья. В 1952 г. получил степень доктора философии Западного резервного университета (Кливленд, штат Огайо). С 1952 г. в течение года стажировался в Копенгагене, в Институте цитофизиологии вместе с Германом Калькармом.

Затем (1955—1959 гг.) он трудился на кафедре микробиологии Вашингтонского университета (Сент-Луис) под руководством Артура Корнберга, где установил новый механизм превращения жирных кислот в их активированные формы. Это впоследствии привело его к открытию аминоксил-тРНК синтетаз.

В 1959—1960 гг. П. Берг занимал должность доцента кафедры биохимии медицинского факультета Стенфордского университета. В 1960—1969 гг. он был профессором этой же кафедры, а с 1969 по 1974 гг. — заведующим кафедрой. Здесь, в Стенфорде он сделал свое выдающееся открытие, удостоенное Нобелевской премии.

С 1973 по 1983 гг. он работал в Солковском институте. В 1985—2000 гг. находился на должности директора Бекмановского центра молекулярной и генетической медицины. С 2000 года по настоящее время он — заслуженный профессор Стенфордского университета,

\* Автор для переписки:

© 2006 г. Воробьев Вадим Сергеевич,  
к.м.н., член Центрального Правления ОБР  
119296 Москва, Университетский пр-т, 9  
E-mail: obr@biorosinfo.ru

продолжает трудиться и участвовать в общественной жизни.

В 1947 году Берг женился на Милдред Леви. У них родился сын.

Главное в его научной деятельности — это открытие рекомбинантной ДНК. К нему он шел путем фундаментальных исследований в химии. Очень важным обстоятельством была его работа вместе с А. Корнбергом, открывшим ДНК-полимеразу, у которого он занимался биохимией микроорганизмов. Решающим моментом послужил отход П. Берга от микробиологической тематики к клеткам млекопитающих. В 1960 году он совместно с Ренато Дульбекко начал работать в Солковском институте на клеточных культурах с полиомой и вирусами опухоли SV40.

Вернувшись в Стенфорд, он попытался использовать SV40 для введения новых генов в клетки млекопитающих. Вместе с коллегами ему удалось разработать метод сплайсинга двух молекул ДНК *in vitro* и внедрить набор из трех генов, ответственных за механизм обмена галактозы у *E. coli*, в геном ДНК SV40. Это случилось в 1970 г. и привело к возникновению технологии рекомбинантных ДНК, что позволило направленно изменять генную структуру и таким образом дало начало эре биотехнологии [10].

Метод П. Берга давал возможность присоединять различные гены к вирусу как транспортному средству для проникновения в клетку. Гены, выделенные из разных организмов, можно было вводить в клетки бактерий с помощью фагов и плазмид и размножать их вместе с бактериями. Результаты были опубликованы и высоко оценены научным сообществом [12, 13]. Ученый сам описал обстоятельства своего эпохального открытия в автобиографии, представленной в Нобелевский комитет в 2004 г. [11]. Безусловно, он отдавал себе отчет в значимости своего выдающегося научного достижения и тогда и позднее.

Открытие Пола Берга было отмечено в 1980 г. Нобелевской премией по химии (половинной) — «за фундаментальные исследования в области биохимии нуклеиновых кислот, в частности, рекомбинантной ДНК» [8]. Вторая половина премии была вручена У. Гилберту и Ф. Сенгеру за вклад в определение последовательности оснований в нуклеиновых кислотах.

Но здесь произошел парадокс. Еще задолго до получения Нобелевской премии Берг, реально осознав опасность антропогенного вмешательства в геномную структуру, решил обратиться с открытым письмом о введении моратория на генно-инженерные исследования.

В 1974 г. он привлек к этому делу Нобелевского лауреата Дж. Уотсона и претендента на премию 1975 г. — Д. Балтимора, и так появилось знаменитое письмо в журнал «Science» (известное как «письмо Берга») [3]. В нем фигурировали другие известные ученые (Зингер и др.), озабоченные потенциальным риском, связанным с изучением рекомбинантных молекул ДНК. В результате на эти исследования был наложен годичный мораторий.

Далее события развивались следующим образом. В 1975 г. в Асиломаре под председательством Берга состоялась международная конференция, наметившая генеральную линию генно-инженерных исследований с соблюдением строгих правил, исключающих нежелательные последствия для биоценозов.

В 1976 году было опубликовано руководство Национального института здоровья по данному вопросу, которое играет важную роль в осуществлении практической деятельности в области генной инженерии [15]. В 1980 г. был выдан патент США С. Коэну и Бойеру на создание рекомбинантной ДНК. Ныне это стало рутинным делом. Тем не менее вклад Берга в регламентацию генно-инженерной деятельности неоспорим.

Впоследствии он продолжил исследования в разработанном им направлении. Много публиковался по вопросам генной инженерии, клонирования, был социально активен. В 1991 г. возглавил научный комитет проекта «Геном человека».

Ныне, находясь в отставке, ученый продолжает публиковать общетеоретические, исторические и дискуссионные статьи [1, 2, 4, 5, 6, 7]. Двое знаменитых ученых — Корнберг и Берг, учитель и ученик — находятся в строю и служат ориентиром для многих специалистов в области физико-химической биологии и биотехнологии.

Пол Берг, кроме Нобелевской премии, был удостоен ряда других наград: премий Национальной академии наук США (1966), Американской академии наук и искусств (1966), Нью-Йоркской академии наук (1980). Он избран почетным доктором Йельского университета, Вашингтонского университета. Королевское общество в Лондоне избрало его почетным членом (1992). Он также стал почетным членом РАЕН (1992).

## Литература

1. Berg P. Asilomar and Recombinant DNA. August 2004 (<http://nobelprize.org>).
2. Berg P. Reflections on the Lasker prize for basic biomedical research // JAMA. — 2005. — Vol. 294. — N 11. — P. 1419–1420.

3. Berg P., Baltimore D., Boyer H.W., Cohen S.N., Davis R.W., Hogness D.S., Nathans D., Robin R., Watson J.D., Weissman W., and Zinder N.D. Potential biohazards of recombinant DNA molecules // *Science*. – 1974. – Vol. 185. – P. 303.
4. Berg P., Singer M. The recombinant DNA controversy: twenty years later // *Biotechnology*. – 1995. – Vol. 13. – P. 1132–1146.
5. Berg P., Singer M. George Beadle: From Genes to Proteins // *Nature Reviews Genetics*. – 2005; January.
6. Horowitz N., Berg P., Singer M., Lederberg J., Susman M., Doebley J., Crow J. A Centennial: George W. Beadle, 1903–1989 // *Genetics*. – 2004. – Vol. 166. – P. 1–10.
7. Berg P. Reflections on Asilomar 2 at Asilomar 3. Twenty-five years later // *Perspect. Biol. Med.* – 2001 Spring. – Vol. 44. – N 2. – P. 183–185.
8. Berg P. Moments of Discovery: My Favorite Experiments // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278. – P. 40417–40424.
9. Berg P. Dissections and Reconstructions of Genes and Chromosomes. Nobel lecture. – 1980 (есть на сайте: <http://nobelprize.org>).
10. *Лауреаты Нобелевской премии: Энциклопедия в 2-х т. Т. 1. А – Л* / Пер. с англ. – М.: Прогресс, 1992. – С. 103–106.
11. Чолаков В. Нобелевские премии. Ученые и открытия. Пер. с болг. – М.: Мир, 1987. – 369 с.
12. Berg P. Autobiography, 2004. <http://nobelprize.org/chemistry/laureates/1980/berg-autobio.html>.
13. Jackson D.A., Symons R.H., and Berg P. A biochemical method for inserting new genetic information into SV40 DNA: circular SV40 DNA molecules containing Lambda phage genes and the galactose operon of *E. coli* // *Proc. Nat. Sci. USA*. – 1972. – Vol. 69. – P. 2904.
14. Goff S.P., and Berg P. Construction of hybrid viruses containing SV40 and Lambda phage DANN segments and their propagation in cultured monkey cells // *Cell*. – 1976. – Vol. 9. – P. 695.
15. *Guidelines for research involving recombinant DNA molecules* // *Federal Register*. – 1976. – Vol. 41. – N 131. – P. 27911–27943.

Интернет-источники:

<http://med.stanford.edu/>

<http://www.peoples.ru/science/chemistry/berg/>

[http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/chemistry/articles/berg/index.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/articles/berg/index.html)

**Резюме.** По случаю 80-летия со дня рождения Пола Берга, создателя первой в мире рекомбинантной ДНК, анализируется значение его открытия и приводятся краткие биографические данные.

*Ключевые слова:* история науки, молекулярная биология, генетика, рекомбинантная ДНК, биографии, Пол Берг.

## TO 80<sup>TH</sup> ANNIVERSARY FROM PAUL BERG'S BIRTHDAY. THE FINISH OF MOLECULAR-GENETIC RACE OF DNA ERA

O.V. VOROBYEVA, V.S. VOROBYEV

*Ovchinnikov Society of Biotechnologists of Russia, Moscow*

On occasion of 80<sup>th</sup> anniversary from birthday of Paul Berg, a creator of recombinant DNA, it was analyzed the importance of his discovery. His short biography was presented also.

*Keywords:* science history, molecular biology, genetics, recombinant DNA, biographies, Paul Berg.



## ЮБИЛЕЙНЫЕ И ЗНАМЕНАТЕЛЬНЫЕ ДАТЫ 2006 ГОДА\*

### СОБЫТИЯ, ФАКТЫ

#### К 140-летию выхода классической статьи Г. Менделя

В истории науки найдется не очень много примеров, когда одна-единственная публикация могла фактически основывать новую науку, а сам автор становился человеком-эпохой. К числу таких публикаций относится статья Грегора Менделя, вышедшая в свет в 1866 году на немецком языке: *Versuche ueber Pflanzen-Hybriden. (Vorgelegt in den Sitzungen vom 8. Februar und 8. Maerz 1865). Verhandlungen des naturforschenden Vereines in Bruenn (Brno). 1866. Bd. 4. S. 3—47.* Это было описание его девятилетних трудов по гибридизации гороха «Опыты над растительными гибридами», которые он осуществил на монастырской полянке размером 0,025 га.

В научном журнале не принято излагать общеизвестные факты из школьных учебников, к числу которых уже давно относится опыты Менделя с горохом и сделанные им выводы, сформулированные впоследствии в виде трех законов. Поэтому в мемориальной статье следует кратко расставить некоторые акценты.

*Во-первых, динамика признания выдающегося открытия.* О результатах своих экспериментов Мендель сообщил на заседании Общества естествоиспытателей в Брюнне в феврале и марте 1865 г. Оба доклада были заслушаны равнодушно: докладчику не было задано ни одного вопроса. Тем не менее было принято решение о публикации доложенных результатов.

В соответствии с научными традициями четвертый том «Трудов Общества естествоиспытателей в Брюнне» со статьей Грегора Менделя был разослан в 120 библиотек университетов и обществ естествоиспытателей городов Европы и Америки. Кроме того, сам автор выслал 40 оттисков своей статьи в адрес известных ботаников, в том числе и Карлу Негели.

Нет ничего удивительного в том, что в 117 библиотеках том «Трудов» с работой Менделя остался неразрезанным — это, к сожалению, удел многих книг, особенно в прежние времена. Однако троим ученым все-таки посчастливилось первыми в мире ознакомиться с беспрецедентным кропотливым трудом монаха-августинца. История сохранила их имена. Это — немецкий ботаник Гофман, автор книги под названием «Исследования определения видовых закономерностей и их из-

менений», ботаник из Петербурга И.Ф. Шмальгаузен (1849—1894), процитировавший исследования Г. Менделя в своей магистерской диссертации, напечатанной в 1874 году в «Трудах Санкт-Петербургского общества естествоиспытателей». Наконец, третьим человеком оказался немецкий врач и ботаник-любитель В. Фокс, который в 1881 году выпустил в свет обстоятельный обзор всех опубликованных в Европе трудов по проблеме гибридизации — книгу «Растительные помеси».

Благодаря упоминанию статьи Менделя в обзоре В. Фокса она стала известна многим европейским специалистам, в их числе К.Э. Корренсу, Э. Чермаку, а также Гуго де Фризу (последнему об этом факте сообщил Бейли). Указанные три исследователя из разных стран независимо друг от друга подтвердили классические опыты Менделя. Отсюда пошла волна всемирного признания Менделя как основателя науки о наследовании признаков (названной в 1906 году по предложению У. Бэтсона генетикой). Однако большинство ученых, ознакомившихся со статьей Г. Менделя, так и не смогло оценить истинное значение его открытия.

*Во-вторых, личная позиция ученого по отношению к собственному открытию.* Здесь интересно следующее. На работу Менделя 1866 года откликнулся только один ученый — К. Негели, профессор ботаники из Мюнхена. Он в целом благосклонно отнесся к его исследованиям, однако высказал сомнения в том, что выявленные на горохе законы имеют универсальный характер, и дал совет повторить опыты на других видах. Мендель согласился с предложением и решил сделать это на ястребинке (*Hieracium*), излюбленном объекте исследований Карла Негели. Но здесь упорного монаха ждала неудача. Позже стала ясной ее причина. Дело в том, что семена у ястребинки образуются апомиктически (партеногенетически), без участия полового размножения. Были выявлены и другие исключения из законов Менделя, которые также нашли свое объяснение некоторое время спустя. Все эти обстоятельства отчасти объясняют причину недостаточной оценки труда ученого.

Сам Мендель после 1866 года перестал заниматься экспериментами на горохе и напечатал после этого семь работ по метеорологии (за всю жизнь им было опубликовано 13 работ). Незадолго до смерти (1884 г.) все же Мендель сказал: «Мои научные труды доставили мне много удовлетворения, и я убежден, что не пройдет много времени — и весь мир признает результаты этих трудов».

\* Материал подготовлен О.В. Воробьевой

*В-третьих, публикации работ Менделя в России.* Первый перевод на русский язык «Опытов над растительными гибридами» был осуществлен К. Фляксбергером и напечатан в 1910 г. в «Трудах Бюро по прикладной ботанике» (в этом же году в Санкт-Петербурге был опубликован и отдельный выпуск). До революции 1917 года вышло еще одно издание в другом переводе (в лаборатории П.Ф. Лесгафта). После революции труд Менделя был издан в 1923 году дважды — в Одессе (под редакцией А.А. Сапегина) и в Москве (под редакцией Н.К. Кольцова в переводе Л. Бреславец — серия «Классики естествознания»). В 1929 году в Ленинграде было осуществлено издание «Полного собрания биологических работ» Менделя. Наконец, в 1935 году вышли в свет еще два издания «Опытов» Менделя: одно из них замечательно тем, что было напечатано под общей редакцией и с вводной статьей академика Н.И. Вавилова (в переводе профессора К. Фляксбергера).

Ничто, казалось бы, не предвещало в 20–30-е годы, что имя Грегора Менделя наряду с именами Августа Вейсмана и Томаса Ханта Моргана станет объектом критики и политической кампании охаивания. После 1935 года наступила эпоха мракобесия в отечественной биологии, которая закончилась в середине 60-х годов. В 1965 году издательство «Наука» в серии «Классики науки» напечатало труды Менделя в подобающей форме и с соответствующим истинному значению ученого редакционным комментарием известных специалистов (Астауров Б.Л., Гайсинович А.Е.).

## ПЕРСОНАЛИИ

### К 140-летию со дня рождения Т.Х. Моргана

Журнал не может не откликнуться на такую знаменательную дату, как 140-летие Т.Х. Моргана (1866–1945). Есть и другая юбилейная дата — 80 лет назад вышла классическая книга Моргана «Теория гена» (1926), которая появилась также в русском переводе в 1927 году в Ленинграде.

Томас Хант Морган родился 25 сентября 1866 г. в Лексингтоне (штат Кентукки, США). Он происходил из знатной семьи. В 1886 году он получил степень бакалавра в государственном колледже штата Кентукки. В 1887 г. он поступил в Университет Джона Гопкинса и через три года получил степень доктора философии за исследования по эмбриологии морских пауков. В 1891 году он стал

адъюнкт-профессором биологии в Брин-Майровском колледже, заменив на этом посту своего коллегу Эдуарда Вильсона (известного американского цитолога).

В 1894 году Морган получил грант для годичной стажировки в лабораториях Зоологической станции в Неаполе. В те годы было традиционным для молодых исследователей из США проходить подготовку в ведущих научных центрах Европы, поскольку в конце XIX века в Америке еще не было сформировавшихся научных школ. Известно, сколь плодотворны были эти стажировки для таких будущих знаменитостей, как Уильям Ослер, Уолтер Кеннон и др.

В лаборатории в Неаполе Морган работал с немецким профессором Гансом Дришем. Здесь Морган выполнил экспериментальное исследование по эмбриологии гребневиков (*Stenophora*). Благодаря этой командировке ему удалось войти в круг самых сложных преемственных проблем эмбриологии, в которой он смог найти свою нишу и выполнить ряд фундаментальных исследований. Результаты этих работ были напечатаны в цикле статей, а также книг (всего им было напечатано 22 книги по вопросам эмбриологии, генетики и эволюции).

По возвращении из зарубежной командировки Морган продолжил работу в Брин-Майровском колледже, став в 1895 году полным профессором.

В 1904 г. по совету Эдуарда Вильсона он перешел в Колумбийский университет на должность профессора экспериментальной зоологии. В этом же году он женился на Лилиан Воган Сэмпсон (1870–1952), своей бывшей студентке (у супругов родилось четверо детей).

С 1908 года Морган начал серию своих первопроходческих работ по генетике дрозофилы, которые принесли ему мировую славу. К нему присоединились талантливые молодые исследователи — К. В. Бриджес, А.Х. Стертевант, Г. Дж. Меллер. В результате целенаправленных исследований был открыт ряд принципиальных фактов, легших в основу хромосомной теории наследственности. Среди них такие положения, как линейное расположение генов в хромосомах, их мутационная изменчивость, сцепление генов с полом (например, белые глаза отмечаются у самцов мушек) и др. Эти открытия были систематизированы в обстоятельном труде «Механизмы менделевской наследственности», который способствовал утверждению генетики как точной науки, имеющей собственные законы и надежные количественные методы.

В 1928 году Морган перешел в Калифорнийский технологический институт (Калтех) в Пасадене, где основал биологическую лабораторию. Здесь он трудил-

ся до конца жизни (1945). Эта лаборатория Моргана стала притягательным местом для исследователей из различных стран мира. Известно, что знаменитый физик и молекулярный биолог Макс Дельбрюк в конце 30-х годов как раз в этой лаборатории приступил к своим фундаментальным работам по бактериофагам.

В эти годы к Моргану пришло подлинное признание. В 1927–1931 гг. он был президентом Национальной академии наук США, в 1932 году возглавлял VI Международный конгресс генетиков в Итаке (Нью-Йорк). В 1933 году Морган получил Нобелевскую премию «за открытия, связанные с ролью хромосом в наследственности» (надо отметить, что в 1919 и 1930 годах он также номинировался на Нобелевскую премию). В этой связи следует упомянуть и такой факт — Морган деньги от Нобелевской премии вручил главным участникам создания хромосомной теории наследственности (Бриджесу, Стертеванту) и своим детям.

В заключение надо указать на несколько моментов, связанных с влиянием Моргана на развитие генетических исследований в России. Очень важно, что он открыл двери своей лаборатории для Н.И. Вавилова, посетившего США в 1921 году. Далее, существенно то, что его ученик Г. Дж. Меллер привез в начале 20-х годов в Россию линии дрозофил, что дало толчок к развертыванию генетических исследований. Безусловно, нельзя не отметить значение такого факта, как длительная работа двух выдающихся сотрудников Моргана — Г. Дж. Меллера и К.В. Бриджеса в Институте генетики АН СССР, возглавляемом Н.И. Вавиловым. Общеизвестно тесное общение с Морганом русских ученых Н.И. Вавилова и Н.В. Тимофеева-Ресовского на конгрессе в Итаке (1932 г.).

Научное взаимодействие не было односторонним — выдающиеся заслуги Моргана были оценены Академией наук СССР. В 1923 году он был избран членом-корреспондентом по разряду биологических наук (зоология), а в 1932 году — почетным членом.

### **К 90-летию со дня рождения Френсиса Крика**

В 2006 году исполнилось 90 лет со дня рождения Френсиса Харри Комптона Крика (1916–2004).

Френсис Х.К. Крик по праву является одной из легендарных личностей XX столетия. Именно ему вместе с Джеймсом Уотсоном выпала судьба открыть двойную спираль ДНК и сообщить об этом мировому научному сообществу в короткой публикации 1953 г. в «Nature».

В биологическую науку английский физик пришел под влиянием чтения книги Эрвина Шредингера «Что такое жизнь с точки зрения физики». До этого ему в военные годы пришлось заниматься созданием мин в научно-исследовательской лаборатории Военно-морского министерства Великобритании.

Знаковым событием в его жизни явилось установление творческих контактов с 23-летним американским биологом Джеймсом Д. Уотсоном, который в 1951 г. пригласил его на работу в Кавендишскую лабораторию. Образовавшийся тандем быстро принес удивительные плоды. Раскрепощенный коллективный ум двух непрофессионалов в области биохимии и молекулярной биологии позволил в кратчайшие сроки построить трехмерную модель молекулы ДНК (впоследствии ей дали имя модели Уотсона — Крика). Выдающиеся биохимики и биофизики, которые вплотную подошли к разгадке наследственной молекулы (Л. Полинг, Э. Чаргафф, М. Дельбрюк и др.), и весь научный мир были потрясены неожиданным прорывом человеческой мысли.

В 50-е годы XX века Френсис Крик уже без Дж. Уотсона с другими соавторами сосредоточился на проблеме генетического кода, и здесь его также ждала удача. Он показал, каким образом последовательность азотистых оснований (мономерных единиц ДНК) переводится (транслируется) в последовательность аминокислот — мономерных единиц белка.

В 1962 году вместе с Дж. Уотсоном и М. Уилкинсом ученый был удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине «за открытия, касающиеся молекулярной структуры нуклеиновых кислот и их значения для передачи информации в живых системах».

Начиная с этого времени Ф. Крик обратился к вопросам нейробиологии и сознания. По данным проблемам у него вышел ряд публикаций, которые в целом уступали по своему уровню его беспрецедентным революционным открытиям в молекулярной генетике.

На протяжении многих лет Ф. Крик отдавал много сил научной публицистике. Его перу принадлежат книги «О молекулах и человеке» («Of molecules and men», 1966), «Жизнь как она есть» («Life Itself», 1981) — имеется русский перевод последней книги, вышедший в 2005 г. В своих научно-популярных трудах он ставит вопрос о возможности внесемного происхождения жизни (теория панспермии). Уделяя внимание он и вопросам гносеологии.

Скончался этот неутомимый, увлекающийся ученый в США 30 июля 2004 года на 88-м году жизни.



## СОБЫТИЯ ВТОРОГО ПОЛУГОДИЯ 2006 ГОДА\*

IV Съезд Общества биотехнологов России  
им. Ю.А. Овчинникова

6–7 декабря 2006 года в Пушкино Московской области состоялся Четвертый съезд Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова. Он проходил при поддержке Государственной Думы ФС РФ, РАН, РАМН, РАСХН. В работе съезда приняли участие более 500 представителей из 38 субъектов Российской Федерации, а также гости из Беларуси, Украины, Узбекистана, Греции, Германии, США, Канады. Среди участников — специалисты разного профиля: биотехнологи, биологи, медики, агрономы, государственные работники, бизнесмены и др. В работе съезда принял участие депутат Государственной Думы ФС РФ А.А. Губкин, который огласил приветствие первого заместителя Председателя Государственной Думы ФС РФ О.В. Морозова.

Научная часть съезда состояла из 2 пленарных заседаний, 2 симпозиумов, 1 круглого стола, презентаций проектов на 2 сессиях. Была организована школа-семинар «Объекты и методы современной биотехнологии». Состоялся конкурс молодых ученых с вручением медали имени Ю.А. Овчинникова. Была проведена презентация номеров журнала «Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова» за 2005–2006 гг. В период работы съезда функционировала выставка, на которой были представлены около 50 компаний биотехнологического профиля.

Отличительной чертой научной программы съезда была презентация наиболее перспективных проектов Национальной программы «Развитие биотехнологии в Российской Федерации на 2006–2015 гг.». Было представлено 13 проектов по 3 разделам: 1) Системная биология. Бионанотехнология. Образование. 2) Медицинская биотехнология. 3) Биоиндустрия и агробиотехнология.

На пленарных заседаниях был сделан ряд докладов по новым методам в биотехнологии, проблеме биоразнообразия, перспективам развития отечественной биотехнологической промышленности и др. Большой интерес вызвало сообщение представителя Директората ЕС по биотехнологии, сельскому хозяйству и продуктам питания Елизабет Бальци о биоэкономике, основанной на знаниях.

В рамках организационной части съезда был заслушан отчетный доклад Центрального Правления Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова за 2005–2006 гг. и за весь отчетный период (2003–2006 гг.), с которым выступил и.о. президента ОБР профессор Р.Г. Василев. В нем было сообщено о произошедших в 2005–2006 гг. изменениях в структуре Общества (увеличении числа членов — организации новых региональных отделений в ряде регионов России и увеличении общего числа членов до 2500 человек); о проделанной научно-организационной работе — конференциях в Москве, Пушкино, Санкт-Петербурге, Калининграде, Анапе. Была проанализирована работа ОБР в целом за 3 истекших года. С отчетом выступил председатель Центральной ревизионной комиссии ОБР М.С. Вонский.

В результате обсуждения отчета руководящих органов Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова, а также научных, практических и организационных аспектов развития отечественной биотехнологии съезд **ПРИНЯЛ РЕШЕНИЕ:**

1. Одобрить деятельность Центрального Правления и Исполнительной дирекции Общества за прошедший после третьего съезда период и за весь отчетный период (2003–2006 гг.).
2. Одобрить отчет Центральной ревизионной комиссии ОБР.
3. Избрать Центральное Правление ОБР.
4. Избрать Центральную ревизионную комиссию ОБР.
5. Избрать Попечительский совет ОБР.
6. Поручить Центральному Правлению ОБР разработать и утвердить Положение о Попечительском совете ОБР.
7. Центральному Правлению ОБР организовать работу по реализации проектов Национальной программы «Развитие биотехнологии в Российской Федерации на 2006–2015 гг.»
8. Центральному Правлению ОБР усилить деятельность по международному сотрудничеству. В качестве одного из первоочередных мероприятий в данном направлении провести в 2007–2008 гг. международную выставку-конгресс «ЕврАзия БИО».
9. Провести очередной Пятый съезд Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова в Москве в ноябре 2007 года.

\* Материал подготовлен О.В. Воробьевой

**Центральное Правление ОБР**

1. Василев Р.Г. — президент
2. Аблаев А.Р.
3. Алексеев Л.П.
4. Бебуров М.Ю.
5. Билалов Ф.С. (Казань)
6. Борисенко Е.Г.
7. Боронин А.М. (Пушино)
8. Власов (Новосибирск)
9. Вонский М.С. (СПб)
10. Воробьев В.С.
11. Воронин С.П. (Саратов)
12. Громовых Т.И. (Красноярск)
13. Эверев В.В.
14. Меджидов М.Г. (Махачкала)
15. Калакуцкий Л.В. (Пушино)
16. Каленик Т.К. (Владивосток)
17. Калинин Ю.Т.
18. Кандыба Е.И.
19. Красильников И.В.
20. Курочкин В.Е. (СПб)
21. Матаев С.И. (Тюмень)
22. Мезенова О.Я. (Калининград)
23. Оводов Ю.С. (Сыктывкар)
24. Орешкин Е.Н.
25. Панин А.Н.
26. Пименов Е.В. (Киров)
27. Пожарская В.О. (Ставрополь)
28. Попов В.О.
29. Чемерис А.В. (Уфа)

На заседании Центрального Правления ОБР Президентом Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова избран профессор Р.Г. Василев.

**Конкурс молодых ученых 2006 г.,  
проведенный Обществом биотехнологов России**

В рамках IV съезда ОБР состоялся конкурс молодых ученых. В конкурсе приняли участие 18 человек из разных городов России (Москва — 5, Санкт-Петербург — 1, Нижний Новгород — 1, Боровск — 4, Брянск — 1, Калининград — 1, Сыктывкар — 1, Уфа — 1, Красноярск — 3). В результате публичного обсуждения стендовых докладов и устных сообщений конкурсантов комиссией, утвержденной Центральным Правлением ОБР, принято решение:

1. Победителем конкурса молодых ученых считать:

Жила Наталью Олеговну (научный сотрудник Института биофизики СО РАН, Красноярск).

Вручить победителю медаль имени Ю.А. Овчинникова и денежную премию.

2. Второе место занял:

Сотников Дмитрий Васильевич (сотрудник Института биохимии им. А.Н. Баха РАН).

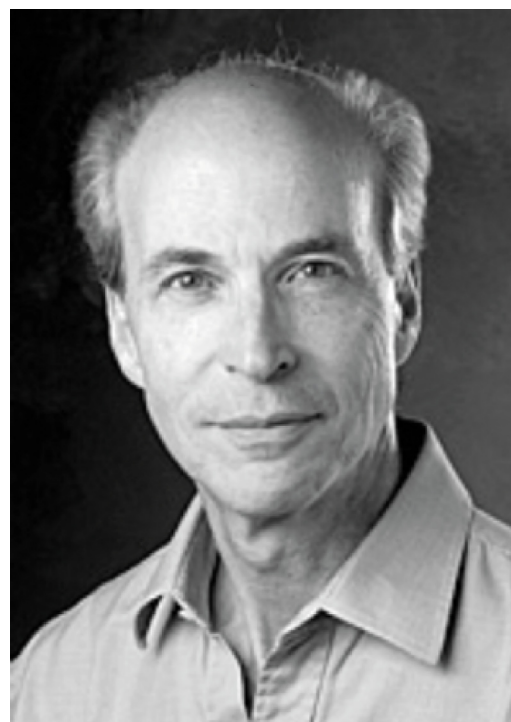
Вручить ему диплом 2-й степени и денежную премию.

3. Третье место занял:

Шарапова Наталья Евгеньевна (сотрудник НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН).

Вручить ей диплом 3-й степени и денежную премию.

**Нобелевская премия по химии 2006 года**



10 декабря 2006 года состоялось вручение Нобелевской премии по химии профессору Стенфордского университета Роджеру Давиду Корнбергу, сыну Нобелевского лауреата 1959 года Артура Корнберга (ныне здравствующего 88-летнего ученого). Премия присуждена «за исследование молекулярных основ транскрипции у эукариот». Р. Корнберг опубликовал в 1974 г. статью, в которой показал, что нуклеосома состоит из тетрамера гистонов H3 и H4 и двух диме-

ров гистонов H2A и H2B. В дальнейшем в развитие данного направления на удачной модели пекарских дрожжей (простых одноклеточных эукариот) удалось сделать важное открытие: установить, что регулирующие сигналы РНК-полимеразы при транскрипции требуют наличия дополнительного звена — белкового комплекса, так называемого «медиатора». Это было установлено в 1990 году. Результаты своих исследований Роджер Д. Корнберг воплощал в кристаллографические модели, на которых демонстрировались последовательные этапы транскрипции в клетках эукариот.

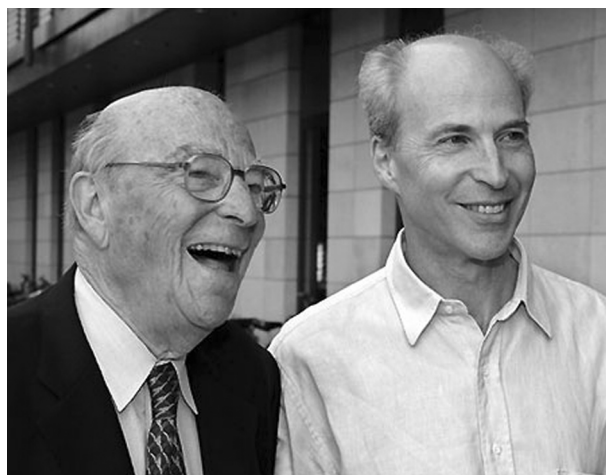
Надо сказать, что к семейному тандему «отец — старший сын» примкнул и младший сын — Томас Билл Корнберг (генетик, работающий сейчас в Калифорнийском университете, Сан Франциско), — который в 1970 г. открыл ДНК-полимеразу II и III (как известно, ДНК-полимеразу I открыл Артур Корнберг в 50-х годах XX века).

Таким образом, есть все основания говорить о семейной династии Корнбергов в молекулярной биологии. Что же касается Нобелевских премий, то это уже 6-я по счету связка двух поколений, удостоенных высокой научной награды.

В химии пока был прецедент Марии — Ирен Кюри, в физике — Джозеф Джон — Джордж Паджет Томсоны, Нильс — Оге Боры, Манне — Кай Сигбаны

(отец и сын Брэгги — Уильям Генри и Уильям Лоренс — получили премию одновременно в 1915 г.), в химии — физиологии и медицине — Ханс фон Эйлер-Хельпин — Ульф фон Эйлер.

И, наконец, в 2006 г. в цепи премий «физиология и медицина — химия» появились имена отца и сына Корнбергов. 12-летний Роджер был на церемонии вручения премии отцу в Стокгольме в 1959 г. и вот теперь в 59-летнем возрасте повторил его триумф.



Отец и сын Корнберги радуются вести из Стокгольма о получении Роджером Нобелевской премии (октябрь 2006 г.)

## ПРЕДСТОЯЩИЕ МЕРОПРИЯТИЯ 2007 ГОДА

## КОНФЕРЕНЦИИ, СЪЕЗДЫ

**9–22 февраля 2007 года** в Москве состоится Первый российский форум «Новые технологии — инновационному бизнесу». Организаторы — Фонд содействия развитию малых предприятий в научно-технической сфере, ООО «Деловая Россия», Общество биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова и др. Форум будет проходить в виде последовательных семинаров по определенным темам в течение 9–22 февраля. Первый семинар «Биотехнология и медицина» будет проходить 9–10 февраля в бизнес-центре «Крылатские холмы». Справки: [www.biorosinfo.ru](http://www.biorosinfo.ru).

**9–10 февраля 2007 года** в Османабаде (Индия) будет проходить Национальный симпозиум по геномике, протеомике и биоинформатике. Информация: <http://www.bamu.net.org>.

**13–15 февраля 2007 года** в Москве состоится выставка «Агротехнология-2007». Мероприятие проводится под эгидой Минсельхоза России. Оргкомитет возглавил министр сельского хозяйства РФ А.В. Гордеев.

**15–17 февраля 2007 года** в Хайдарабаде (Индия) состоится Четвертая конференция «БиоАзия 2007» («BioAsia 2007»). В программе главное внимание уделяется вопросам бизнеса. Информация: <http://www.bioasia.in>.

**5–7 марта 2007 года** в Милане (Италия) состоится конференция «Bio-Europe Spring 2007». Меропри-

ятие комплементарно по отношению к соответствующей конференции «BIO-Europe» (в 2007 г. «Bio-Europe» будет проходить в Гамбурге). Ожидается участие 120 компаний. Информация: <http://www.ebdgroup.com/bes/index.htm>.

**11–16 марта 2007 года** в Эйлате (Израиль) состоится 8-я Международная конференция по морской биотехнологии. Справки: E-mail: [imbc2007@ocean.org.il](mailto:imbc2007@ocean.org.il).

**12–16 марта 2007 года** в Москве будут проходить Четвертый Московский международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы» и 5-я международная специализированная выставка «Мир биотехнологии 2007». Среди организаторов: Правительство Москвы, РАН, РАМН, РАСХН, профильные федеральные министерства. Информация: [www.mosbiotechworld.ru](http://www.mosbiotechworld.ru).

**9–11 марта 2007 года** в Фессалониках (Греция) состоится 5-й Международный конгресс по пищевой технологии. Информация: <http://www.congress5.petet.org.gr>.

**13–15 марта 2007 года** в Йоганнесбурге (ЮАР) состоится бизнес-форум по биотехнологии («Biotechnology Business Forum»). Информация: <http://www.iir-conferences.co.za/biotech>.

1. Рукописи статей и других материалов представляются в редакцию на бумажном носителе (формат А4) или в электронном виде (на дискете или по электронной почте с обязательным уведомлением).
2. Текст набирается в Microsoft Word, шрифт — Times New Roman, размер шрифта — 12, межстрочный интервал — полуторный. Размещение на листе формата А4 со стандартными полями. Кроме текста статьи, добавляются краткие сведения об авторе (ах): Ф.И.О., место работы, должность, научные степень и звание, адрес для переписки и факсимильной и электронной связи).
3. Объем рукописи: оригинальные статьи — не более 12 — 14 стр. (в среднем 22000 знаков без пробела), не более 25 цитированных авторов; обзоры — не более 20 — 24 стр. (в среднем 40000 знаков без пробела), список литературы — не более 50 авторов. Требования к композиции рукописи: 1) оригинальные статьи — УДК, название, автор (ы), место работы, резюме на русском и английском языках, ключевые слова, введение, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение (выводы), литература, список сокращений; 2) краткие сообщения и обзоры строятся в виде сплошного текста, без вышеуказанных рубрикаций, со списком литературы, но без резюме; 3) остальные материалы (письма в редакцию, хроникальные сообщения, рецензии и т.д.) представляются в произвольной форме.
4. Требования к оформлению содержания рукописи (таблицы, графики, формулы, фотографии, рисунки и др.). Рисунки прилагаются отдельно к тексту рукописи в бумажном и электронном виде в формате TIF или JPEG. Таблицы помещаются по ходу текста или прилагаются отдельно. Порядок оформления иллюстративного и иного дополнительного (пояснений, примечаний, благодарностей и т.д.) материала к текстам обычный.
5. Требования к цитированной литературе: Список литературы оформляется или в алфавитном порядке (вначале — литература на русском языке, затем — на иностранных), или по порядку упоминания и ссылок в тексте при использовании цифр. В последнем случае номер цитированного источника берется в тексте в квадратные скобки. Оформление отдельного источника литературы осуществляется в соответствии с общепринятыми для научных изданий библиографическими требованиями, включая международные установки (Index Medicus и др.).
6. Не допускается публикация работ, уже напечатанных или посланных в редакции других изданий.
7. При несоблюдении указанных правил статьи редакцией не принимаются.
8. Принятые к публикации рукописи проходят рецензирование, после чего принимается окончательное решение о возможности печатания. Отклоненные рукописи не возвращаются.
9. Редакция не несет ответственности за достоверность фактов, выводы и суждения, приведенные в представленном к печати и опубликованном материале авторов.
10. Редакция оставляет за собой право делать научную и литературную правку, в том числе сокращать объем статей.
11. Адрес редакции указан на титульном листе журнала.
12. Журнал является безгонорарным. Редакция резервирует для автора статьи по 1 экземпляру журнала. По вопросам приобретения отдельных номеров журнала следует обращаться в редакцию. Подписка на журнал в течение 2006 года осуществляться не будет.
13. С 2007 года начинается подписка. Подписной индекс 20991 в каталоге «Пресса России», 1-й том. Газеты и журналы. Периодичность в полугодии — 2. Каталожная цена на 3 мес. — 154 руб. 10 коп.; на 6 мес. — 308 руб. 20 коп.



## ОБЩЕСТВО БИОТЕХНОЛОГОВ РОССИИ ИМ. Ю.А. ОВЧИННИКОВА

Общество биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова (ОБР) создано в 2003 г., зарегистрировано Минюстом России.

Главными целями деятельности ОБР являются:

- содействие развитию биотехнологии в России как приоритетного направления научно-технического прогресса, основы повышения уровня жизни и благосостояния ее граждан;
- содействие сохранению научного и научно-технологического потенциала биотехнологии в различных отраслях народного хозяйства, достижению приоритета российской науки;
- обеспечение обмена научными идеями и научно-техническими достижениями, передовым производственным опытом;
- содействие развитию сотрудничества ученых, инженеров, специалистов с мировым научным и общественно-политическим сообществом;
- создание условий для творческой работы, роста профессионализма и компетентности, более полного использования интеллектуального потенциала членов организации в интересах развития науки и производства.

Для достижения этих целей ОБР осуществляет различные мероприятия, в том числе проводит конференции, симпозиумы, рабочие совещания. Ежегодно проводится Съезд Общества биотехнологов России.

Издается журнал «Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова» совместно с Информационно-аналитическим центром медико-социальных проблем.

ОБР имеет отделения в 55 регионах России и объединяет свыше 2000 членов.

ОБР является членом Европейской федерации биотехнологии.

ОБР тесно сотрудничает с Союзом биотехнологов и другими общественными и государственными организациями, научными и образовательными учреждениями по профилю.

Основной организационной деятельностью ОБР являются региональные отделения, тесно взаимодействующие с Центральным Правлением и Секциями (экспертными группами).

Членство в ОБР является бесплатным для физических лиц.

*Контакты: Адрес: 119296 Москва, Университетский пр-т, 9*

*Тел.: 8-915-179-51-92*

*E-mail: obr@biorosinfo.ru; www.biorosinfo.ru*