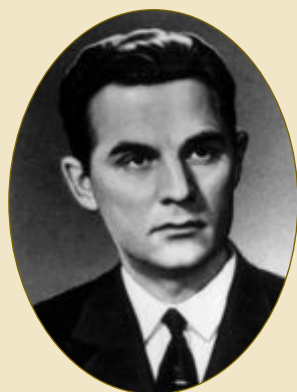


· БЕЛОЗЕРСКИЙ · ТОДД · СЕНГЕР · ОЧОА ·

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

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



**Т. 3, № 4**  
**2007**

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

· СМИТ · ГИЛБЕРТ · БЕРГ · ЭНГЕЛЬГАРДТ ·

2007, Т. 3, № 4

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

**Научно-практический журнал**

**Основан в 2005 году**

**Главный редактор**

Р.Г. Васильов

**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), М.С. Вонский (Санкт-Петербург),  
В.Г. Дебабов (Москва), С.Х. Дегтярев (Новосибирск), В.В. Зверев (Москва),  
А.И. Иваненко (Москва), В.Т. Иванов (Москва), Л.В. Калакуцкий (Пушино),  
М.П. Кирпичников (Москва), О.И. Киселев (Санкт-Петербург), А.И. Мирошников (Москва),  
Т.В. Овчинникова (Москва), О.Н. Озолинь (Пушино), Е.Н. Орешкин (Москва),  
А.Н. Панин (Москва), Е.В. Пименов (Киров), В.О. Попов (Москва),  
К.Г. Скрябин (Москва), Г. Хаммерлинг (Германия), Р.М. Хаитов (Москва),  
В.И. Швец (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.: +7 (495) 648-09-13, 662-95-91  
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.: 8-926-470-22-00  
E-mail: raifvasilov@mail.ru

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

**ISSN 1996-4741**

© Информационно-аналитический центр  
медико-социальных проблем, 2007.

**СОДЕРЖАНИЕ**

**Колонка главного редактора**

К читателям. *Р.Г. Василев* ..... 4

**Оригинальные статьи**

Биосинтез лимонной кислоты дрожжами на среде с глицерином.  
*А.Р. Фатыхова, С.В. Камзолова, И.Г. Моргунов* ..... 5

Совершенствование механизмов диагностики, прогнозирования и коррекции постантибиотических дисбактериозов кур и индеек в условиях промышленного птицеводства.  
*В.Н. Афонюшкин, Е.В. Дударева, М.Л. Филипенко* ..... 14

Сравнительный рестрикционный анализ хромосомной ДНК мыши *in vitro* и *in silico*.  
*В.А. Чернухин, М.А. Абдурашитов, В.Н. Томилов, Д.А. Гончар, С.Х. Дегтярев* ..... 19

**Краткие сообщения**

Использование реконструированных биопленок для ускорения деградации углеводов нефти.  
*Е.А. Стрелкова, М.В. Журина, В.К. Плакунов* ..... 28

Изучение структуры гена вакуолярного  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  антипортера *Nhx1* солероса европейского (*Salicornia europaea*). *Д.И. Богомаз, Г.К. Кудрявцев, Л.А. Лутова* ..... 31

Оптимизация параметров генетической трансформации тополя *Populus ssp.*  
*Н.В. Булычева, А.М. Камионская* ..... 32

Роль хитоолигосахаридов в формировании окислительного статуса растительной клетки при заражении *Tilletia caries*. *Э.Р. Юсупова, И.В. Максимов, О.Б. Сурина* ..... 33

Комплексное использование биомассы гриба *Mucor circinelloides* Tiegh. var. *lusitanicus* ИНМИ – продуцента  $\gamma$ -линоленовой кислоты. *Н.С. Фунтикова, И.С. Мысякина* ..... 35

**Обзоры**

Приоритетные проекты направления «Морская биотехнология».  
*О.Я. Мезенова* ..... 37

Комплексная переработка семян растений рода *Amaranthus* L.  
*Е.Н. Офицеров* ..... 41

**Страницы истории**

Вавилов и Бэтсон: ученик и учитель: новые исторические находки.  
К 120-летию со дня рождения Н.И. Вавилова.  
*В.С. Воробьев, О.В. Воробьева* ..... 53

Еще раз об отце: факты из семейного архива. Николай Вавилов за чтением Дарвина.  
*Ю.Н. Вавилов* ..... 65

Юбилейные и знаменательные даты 2007 года ..... 70

**Хроника**

События второй половины 2007 года ..... 74

**Информация**

Предстоящие мероприятия 2008 года ..... 79

**Правила для авторов** ..... 79

**CONTENTS**

**Column of the editor-in-chief**

To readers. *R.G. Vasilov* ..... 4

**Original articles**

Yeast biosynthesis of citric acid in the medium with glycerol.

*A.R. Fatykhova, S.V. Kamzolova, I.G. Morgunov* ..... 5

Improvement of mechanisms of diagnostics, forecasting and correction of postantibiotic dysbacterioses in hens and turkeys under conditions of industrial poultry farming.

*V.N. Afonjushkin, E.V. Dudareva, M.L. Filipenko* ..... 14

Comparative analysis of mouse chromosomal DNA digestion with restriction endonucleases in vitro and in silico.

*V.A. Chernukhin, M.A. Abdurashitov, V.N. Tomilov, D.A. Gonchar, S.Kh. Degtyarev* ..... 19

**Short communications**

Using reconstructed biofilms to accelerate the degradation of petroleum hydrocarbons.

*E.A. Strelkova, M.V. Zhurina, V.K. Plakunov* ..... 28

Study of vacuolar gene structure  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter *Nhx1* saltwort (*Salicornia europaea*).

*D.I. Bogomaz, G.K. Kudryavtsev, L.A. Lutova* ..... 31

Optimization of genetic transformation of poplar *Populus* ssp.

*N.V. Bulycheva, A.M. Kamionskaya* ..... 32

Role of chytooligosaccharides in the formation of oxidative status of plant cells infected with *Tilletia caries*.

*Z.R. Yusupova, I.V. Maximov, O.B. Surina* ..... 33

Complex use of biomass fungus *Mucor circinelloides* Tiegh. var. *lusitanicus* INMI – producers  $\gamma$ -linolenic acid.

*N.S. Funtikova, I.S. Mysyakina* ..... 35

**Reviews**

Priority projects of the programme «Marine biotechnology».

*O.Ya. Mezenova* ..... 37

Complex seed processing plant genus *Amaranthus* L.

*E.N. Oficerov* ..... 41

**Pages of history**

Vavilov and Bateson: pupil and teacher – new historical godsend.

To 120<sup>th</sup> anniversary from N.I. Vavilov's birthday.

*V.S. Vorobyev, O.V. Vorobyeva* ..... 53

Once more about my father: some facts from family archive. Nikolay Vavilov reads Darwin's original texts.

*Yu.N. Vavilov* ..... 65

Anniversary and significant dates 2007 ..... 70

**The chronicle**

Events of the second half-year 2007 ..... 74

**The information**

Forthcoming actions 2008..... 79

**Rules for authors** ..... 79



## К читателям

Выход в свет четвертого номера 2007 года совпал по времени со 120-летием со дня рождения Н.И. Вавилова, в связи с чем редколлегия откликнулась на эту дату. Была подготовлена обстоятельная аналитическая статья о взаимоотношениях У. Бэтсона и Н.И. Вавилова, а также предоставлена возможность сыну выдающегося ученого — Юрию Николаевичу Вавилову — опубликовать новые материалы об отце по случаю юбилея. Отражена в журнале и широкая панорама чествования Н.И. Вавилова по всей стране (Москва, Санкт-Петербург, Саратов).

Продолжен цикл публикаций авторов из Пушкино, посвященных биотехнологическому производству органических кислот (во включенной в номер статье речь идет о лимонной кислоте).

Помещены две статьи из Новосибирска: одна из них — из серии работ НПО «СибЭнзим», которые регулярно печатаются в нашем журнале, другая — посвящена методам диагностики и коррекции постантибиотических дисбактериозов у сельскохозяйственных птиц в условиях промышленного производства.

В статье О.Я. Мезеновой (Калининград) поднимается вопрос о перспективах развития морской биотехнологии в России (данная тема уже освещалась в журнале). Интересный обзор о возможностях практического использования амаранта в сельском хозяйстве, пищевой и фармацевтической промышленности представлен Е.Н. Офицеровым. Этот обзор очень важен особенно в связи с вавиловским юбилеем. Известно, что Н.И. Вавилов высоко оценил пищевые и кормовые свойства амаранта еще в 1930 году и настоятельно рекомендовал его к незамедлительному внедрению в отечественное сельское хозяйство.

В разделе «Краткие сообщения» сотрудники Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН (Москва) Стрелкова Е.А. и др. привели данные об использовании биопленок для ускорения деградации углеводов нефти. Здесь также публикуется несколько работ по агробиотехнологии и лесной биотехнологии из Материалов IV Съезда Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова.

Редколлегия не могла пройти мимо других, кроме вавиловской, круглых дат, связанных со знаменитыми учеными по профилю журнала, тем более теми, чьими именами украшена его обложка. Поэтому в данном номере помещены материалы к 120-летию со дня рождения Э. Шредингера, 85-летию Х.Г. Кораны, 75-летию У. Гилберта.

Горечь утраты в связи с уходом из жизни великого Артура Корнберга отражена в некрологе, подготовленном редакцией.

В конце изложена информация о наиболее интересных предстоящих событиях первого квартала 2008 г.

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

## БИОСИНТЕЗ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ ДРОЖЖАМИ НА СРЕДЕ С ГЛИЦЕРИНОМ

А.Р. ФАТЫХОВА, С.В. КАМЗОЛОВА, И.Г. МОРГУНОВ\*

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,  
Пушино, Московская область

Исследована способность экскретировать лимонную кислоту у 59 штаммов дрожжей родов *Candida*, *Saccharomyces*, *Yarrowia*, *Debaromyces*, *Pichia* и *Torulopsis* при росте на среде с глицерином. Штамм *Yarrowia lipolytica* 704 отобран в качестве продуцента лимонной кислоты. Для отбора штаммов разработан селективный экспресс-метод с использованием агаризованной среды, включавшей в себя лимитирующую концентрацию аминного азота и избыток глицерина. Исследованы условия культивирования, стимулирующие процесс биосинтеза лимонной кислоты. При культивировании природного штамма *Y. lipolytica* 704 в среде с глицерином происходит накопление 110,0 г/л лимонной кислоты.

**Ключевые слова:** глицерин, сверхсинтез лимонной кислоты, дрожжи *Yarrowia lipolytica*.

Лимонную кислоту (ЛК) получают микробиологическим способом во всех промышленно развитых странах. Ежегодно в мире производится более 1 млн. 400 тысяч т ЛК, а годовой прирост производства составляет 5% от существующего уровня [1].

При традиционном способе получения ЛК в качестве продуцента используют мицелиальные грибы *Aspergillus niger*, основным сырьем является свеколичная меласса — отход производства сахара. Содержание сахара в мелассе не превышает 50%, остальные 50% — это балластные вещества, которые не используются продуцентом и выбрасываются в окружающую среду (являются отходами производства). Кроме того, предусматривается обязательная обработка мелассы ферроцианидами для удаления избыточного содержания микроэлементов [2]. Таким образом, традиционный процесс производства ЛК из мелассы является сложным и экологически небезопасным.

Долгое время считалось, что только мицелиальные грибы способны продуцировать ЛК. В 60-е годы в связи с работами, развернувшимися во всем мире по использованию углеводородов нефти в качестве сырья для производства микробного белка, была обнаружена способность дрожжей *Candida* (*Yarrowia*) *lipolytica* продуцировать

ЛК. Первые наиболее существенные успехи были достигнуты одновременно в Японии и СССР. В нашей стране эти работы проводились в Отделе биоэнергетики Института биохимии и физиологии микроорганизмов АН СССР (ныне — ИБФМ РАН) под руководством А.Б. Лозина и Т.В. Финогеновой [3–5]. Условием синтеза ЛК дрожжами является лимитирование их роста минеральными компонентами среды (N, P, S или Mg) при избыточном содержании источника углерода [6]. В качестве источника углерода были использованы n-алканы [4–6], этанол [7], растительные масла [8] и глюкоза [9].

В настоящее время наблюдается тенденция расширять сырьевую базу микробиологической промышленности за счет использования глицерина. Глицерин можно отнести к перспективным источникам углерода для микробиологической промышленности, ресурсы которого значительно увеличиваются вследствие успешно развивающейся технологии химического синтеза, а также за счет его получения из растительных отходов и отходов производства биодизеля.

Сведения относительно роста микроорганизмов в среде с глицерином единичны. Исследованиями, проведенными в ИБФМ РАН, выявлен ряд культур дрожжей рода *Candida*, активно усваивающих глицерин. Разработана технология производства пировиноградной кислоты из глицерина (достигнута концентрация 61 г/л, выход — 71%) [10]. Проведен отбор продуцента, определены условия продукции пировиноградной кислоты, исследо-

\* Автор для переписки:

© 2007 г. Моргунов Игорь Григорьевич,  
к.б.н., заведующий лабораторией ИБФМ РАН,  
142290 Пушино Московской обл.,  
E-mail: morgunovs@rambler.ru

ван биохимический механизм катаболизма глицерина и сверхсинтеза пировиноградной кислоты [11].

Целью настоящего исследования явилось изучение возможности использования глицерина для роста различных дрожжевых организмов и микробиологического получения ЛК.

### Материалы и методы

В работе использовали 59 природных штаммов дрожжей, относящихся к видам *Debaryomyces* 2d, *Candida brumptii*, *C. rugosa*, *C. olea*, *C. paludigena*, *C. pelliculosa*, *C. catanulata*, *C. zeylanoides*, *C. guilliermondii*, *Pichia besseyi*, *P. media*, *P. inositovora*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulopsis candida*, *Yarrowia lipolytica*. Культуры были получены из ВКМ РАН и музея лаборатории аэробного метаболизма микроорганизмов ИБФМ РАН. Культуры поддерживали при +4 °С на сусло-агаре, пересевы проводили один раз в 3 месяца.

Кислотообразование дрожжей оценивали на селективной среде с мелом в чашках Петри. Состав среды следующий (г/л): глицерин — 20,0;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  — 0,7;  $Ca(NO_3)_2$  — 0,4; NaCl — 0,5;  $KH_2PO_4$  — 1,0;  $K_2HPO_4$  — 0,1; дрожжевой автолизат — 8,0 мл/л (содержание аминного азота не выше 60 мг/л); микроэлементы по Буркгольдеру [12]; бакто-агар — 20,0. Непосредственно перед розливом в чашки в разогретую среду вносили мел ( $CaCO_3$  — 6,0 г/л). После полного остывания среды репликатором наносили клетки исследуемых культур. Инкубацию проводили в течение 6 суток при 29 °С.

Культивирование природного штамма *Y. lipolytica* 704 проводили в ферментере АНКУМ-2М (Россия) объемом 10 л (исходный объем среды 5,0 л). Автоматически поддерживали температуру ( $29,0 \pm 0,1$  °С), концентрацию растворенного в среде кислорода (55–60% от насыщения), pH среды 5,0 (подтитровкой 20%-ным раствором NaOH).

Среда имела следующий состав (г/л): глицерин (концентрация указана в тексте);  $(NH_4)_2SO_4$  — 6,0;  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  — 1,4;  $Ca(NO_3)_2$  — 0,8; NaCl — 0,5 г;  $KH_2PO_4$  — 2,0;  $K_2HPO_4$  — 0,2; дрожжевой экстракт «Difco» — 0,5; удвоенный раствор микроэлементов по Буркгольдеру [12]; тиамин — 0,5 мг/л. Время культивирования — 144 ч.

Рост дрожжей контролировали по весу сухой биомассы, который определяли фильтрованием культуральной жидкости через мембранные фильтры «Супрог» N 3 (Чехословакия) с последующим высушиванием фильтров до постоянного веса.

Для определения содержания ЛК и трео-Ds-изолимонной кислоты (ИЛК) был использован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC). Элюцию вели при следующих условиях: скорость элюции 1 мл/мин.; температура 35 °С, в качестве буфера использовали фосфорную кислоту 20 мМ. Для разделения ЛК и ИЛК применяли колонку фирмы Элсико (Россия) с обращенной фазой Inertsil ODS-3 (250x4 мм). В работе использовали HPLC хроматограф фирмы LKB (Швеция). Регистрацию кислот проводили при длине волны 210 нм. Органические кислоты идентифицировали в соответствии со стандартами ЛК и ИЛК (Boehringer Mannheim, Германия).

Кроме того, содержание ЛК и ИЛК в культуральной жидкости определяли энзиматически с использованием диагностических наборов (Boehringer Mannheim, Германия). Содержание глицерина определяли энзиматически с использованием диагностического набора (Boehringer Mannheim, Германия).

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

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

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

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

Удельную скорость кислотообразования ( $q_p$ , г кислоты/г биомассы в час) рассчитывали по формуле:

$$q_p = \frac{R_2 - R_1}{\frac{m_2 - m_1}{2} \cdot (t_2 - t_1)}, \text{ где}$$

$R_1$  — количество образованной кислоты на момент времени  $t_1$ , г;  $R_2$  — количество образованной кислоты на момент времени  $t_2$ , г;  $m_1$  и  $m_2$  — вес сухой биомассы в момент времени  $t_1$  и  $t_2$  (в ч), г.

Выход кислоты из потребленного субстрата ( $Y_s$ , в г/г) определяли по уравнению:

$$Y_s = \frac{C}{S}, \text{ где}$$

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

S — количество потребленного субстрата (глицерина или отходов) за период роста и кислотообразования, г.

Методы расчета выхода биомассы из потребленного глицерина ( $Y_{x/s}$ ), и энергетического выхода продукта ( $\eta_{\text{ЛК}}$ ) подробно описаны ранее [13].

Все использованные в работе реактивы имели квалификацию осч или хч.

В статье приводятся результаты опытов, повторявшихся не менее трех-четырех раз; в каждой точке проводилось два-три параллельных измерения.

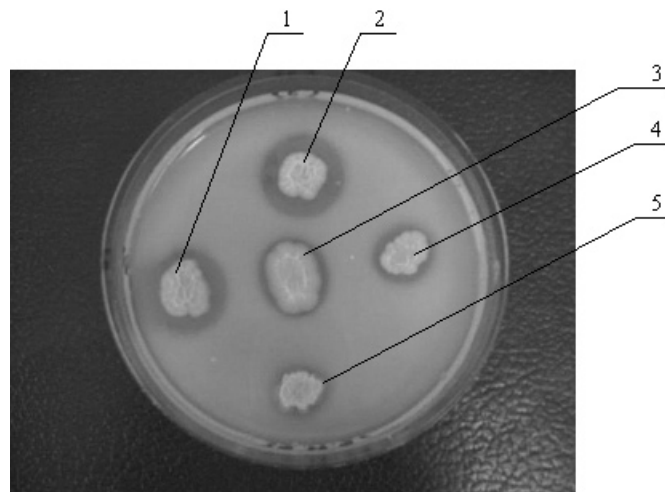
### Результаты и их обсуждение

**Отбор штамма продуцента ЛК.** Исследования проводили с 59 природными штаммами дрожжей, относящихся к видам *Debaryomyces* 2d, *Candida brumptii*, *C. rugosa*, *C. olea*, *C. paludigena*, *C. pelliculosa*, *C. catanulata*, *C. zeylanoides*, *C. guilliermondii*, *Pichia besseyi*, *P. media*, *P. inositovora*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulopsis candida*, *Y. lipolytica*.

Кислотообразующую способность штаммов оценивали по зонам растворения мела, которые образуются за счет выделения органических кислот на твердой среде. Метод был предложен Lodder (1970) для определения таксономического положения дрожжей семейства *Brettanomyces*. В основу подготовки среды положены три основных признака: избыток глицерина, лимитирующая концентрация азота (60 мг/л) и использование только органического источника азота (дрожжевого автолизата) вместо  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  [14]. Колонии рассеивали с помощью репликатора на чашки Петри с агаризованной средой Ридер (не более 5 колоний на чашку).

При росте дрожжевых организмов в процессе выделения кислот вокруг колоний появлялись различные по величине четко визуально различимые зоны растворения мела, соответствующие количеству образующихся кислот; после 6 суток инкубации при температуре 29 °С измеряли их ширину. На рисунке 1 показано кислотообразование на твердой среде 5 штаммов дрожжей *Y. lipolytica*. Все штаммы хорошо росли на среде с глицерином и синтезировали кислоты. Полученные результаты представлены в таблице 1. Лимитирование роста приводило к экскреции кислот у 34 штаммов (33 штамма *Y. lipolytica* и 1 штамм *C. paludigena*), но у 25 штаммов оно не наблюдалось (штаммы, относящиеся к родам *Debaryomyces*, *Candida*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Torulopsis*). Среди *Y. lipolytica* 8 штаммов не образовывали кислот. Штаммы-кислотообразователи различались по зоне растворения мела. Как видно из таблицы 1, 16 штаммов имели зону растворения мела, равную

0,5–2 мм, 9 штаммов имели зону растворения мела, равную 2,5–4 мм, 3 штамма имели зону растворения мела, равную 4,5–6 мм, 5 штаммов имели зону растворения мела, равную 6,5–8,0 мм, и 1 штамм (*Y. lipolytica* 704) имел зону растворения мела выше 8 мм.



- 1 — *Y. lipolytica* 683
- 2 — *Y. lipolytica* 704
- 3 — *Y. lipolytica* 79
- 4 — *Y. lipolytica* 695
- 5 — *Y. lipolytica* 571

Рис. 1. Кислотообразование дрожжей на агаризованных средах, содержащих глицерин в качестве источника углерода

Для дальнейшей работы в качестве наиболее активного продуцента был отобран штамм *Y. lipolytica* 704, у которого зона растворения была максимальной (более 8,5 мм).

**Подбор оптимальных условий кислотообразования.** В последующих опытах было исследовано влияние рН среды, аэрации и содержания глицерина на кислотообразующую способность природного штамма *Y. lipolytica* 704.

Опыты проводили по следующей схеме: клетки, находящиеся в фазе активного кислотообразования (биомасса 10 г/л и ЛК 18 г/л), отбирали из ферментера, отделяли от культуральной жидкости центрифугированием, дважды промывали 0,9% раствором NaCl и суспензировали в 50 мМ фосфатном буфере (рН=7,0). Клеточную суспензию вносили в колбы объемом 750 мл с 50 мл среды Ридер без азота и витаминов, содержащей глицерин, и инкубировали на качалке при 29 °С в течение 22 ч. За время опыта величина рН снижалась незначительно (на 0,5–0,3 единицы), и концентрация клеток оставалась постоянной (на уровне  $3,0 \pm 0,3$  г/л).



**Таблица 1**  
**Кислотообразующая способность дрожжей,**  
**растущих на глицеринсодержащей агаризованной**  
**среде с мелом**

Вид дрожжей	D, мм
<i>Debaryomyces 2d</i> sp.	0
<i>Candida brumptii</i> ВКМ Y-5	0
<i>C. rugosa</i> ВКМ Y-67	0
<i>C. olea</i> ВКМ Y-57	0
<i>C. paludigena</i> ВКМ Y-2443	2,0
<i>C. pelliculosa</i> ВКМ Y-118	0
<i>C. catanulata</i> ВКМ Y-36	0
<i>C. zeylanoides</i> ВКМ Y-6	0
<i>C. zeylanoides</i> ВКМ Y-14	0
<i>C. zeylanoides</i> ВКМ Y-2324	0
<i>C. zeylanoides</i> ВКМ Y-2595	0
<i>C. guilliermondii</i> H-P-4	0
<i>Pichia besseyi</i> ВКМ Y-2084	0
<i>P. media</i> ВКМ Y-1381	0
<i>P. inositovora</i> ВКМ Y-2494	0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ВКМ Y-381	0
<i>Torulopsis candida</i> 127	0
<i>T. candida</i> 420	0
<i>Yarrowia lipolytica</i> 12a	0
<i>Y. lipolytica</i> 9b	3
<i>Y. lipolytica</i> ВКМ Y-47	0
<i>Y. lipolytica</i> 68	0
<i>Y. lipolytica</i> 69	3
<i>Y. lipolytica</i> 76	1
<i>Y. lipolytica</i> 79	2
<i>Y. lipolytica</i> 86	8
<i>Y. lipolytica</i> 212	8
<i>Y. lipolytica</i> 214	4
<i>Y. lipolytica</i> 281	4
<i>Y. lipolytica</i> 374/1	3
<i>Y. lipolytica</i> 374/3	1,5
<i>Y. lipolytica</i> 374/4	0,5
<i>Y. lipolytica</i> 374/5	2
<i>Y. lipolytica</i> 374/6	0
<i>Y. lipolytica</i> 374/8	1
<i>Y. lipolytica</i> 387	2

<i>Y. lipolytica</i> 571	2
<i>Y. lipolytica</i> 581	1
<i>Y. lipolytica</i> 582	2
<i>Y. lipolytica</i> 585	1
<i>Y. lipolytica</i> 591	0
<i>Y. lipolytica</i> 607	3,5
<i>Y. lipolytica</i> 645	4
<i>Y. lipolytica</i> 646	1
<i>Y. lipolytica</i> 655	0
<i>Y. lipolytica</i> 666	0
<i>Y. lipolytica</i> 667	8
<i>Y. lipolytica</i> 668	1,5
<i>Y. lipolytica</i> 670	0,5
<i>Y. lipolytica</i> 672	0
<i>Y. lipolytica</i> 681	4,5
<i>Y. lipolytica</i> 683	7
<i>Y. lipolytica</i> 694	5
<i>Y. lipolytica</i> 695	3
<i>Y. lipolytica</i> 704	8,5
<i>Y. lipolytica</i> 706	7
<i>Y. lipolytica</i> 709	4
<i>Y. lipolytica</i> 710	5
<i>Y. lipolytica</i> 716	2

Примечание: D — зона растворения мела

В ходе экспериментов оценивали жизнеспособность клеток. Микроскопирование и анализ внеклеточного белка показали незначительное разрушение клеток в некоторых вариантах опыта. Результаты опытов представлены на рисунке 2.

При всех исследованных значениях pH среды (диапазон от 3,0 до 8,0) клетки синтезировали ЛК; интенсивное кислотообразование наблюдалось в интервале pH=4,0–6,0, достигая максимума при pH=5,0. При pH=5,0 клетки за 22 ч накапливали 5,7 г/л ЛК. Культивирование дрожжей при более низком значении pH (3,0) и более высоких значениях pH (7,0–8,0) приводило к меньшему накоплению ЛК. В качестве наименее благоприятного следует отметить pH=3,0.

Полученный оптимум pH совпадает с оптимальным интервалом pH=4,5–6,0 для процесса роста *Y. lipolytica* и синтеза ЛК из других источников углерода. На этаноле диапазон pH=3,5–7,0 обеспечивает высокую удельную скорость роста ( $\mu$ ) у *Y. lipolytica* [15]. При pH ниже 3,2 рост клеток был значительно ингибирован. В среде с глицерином

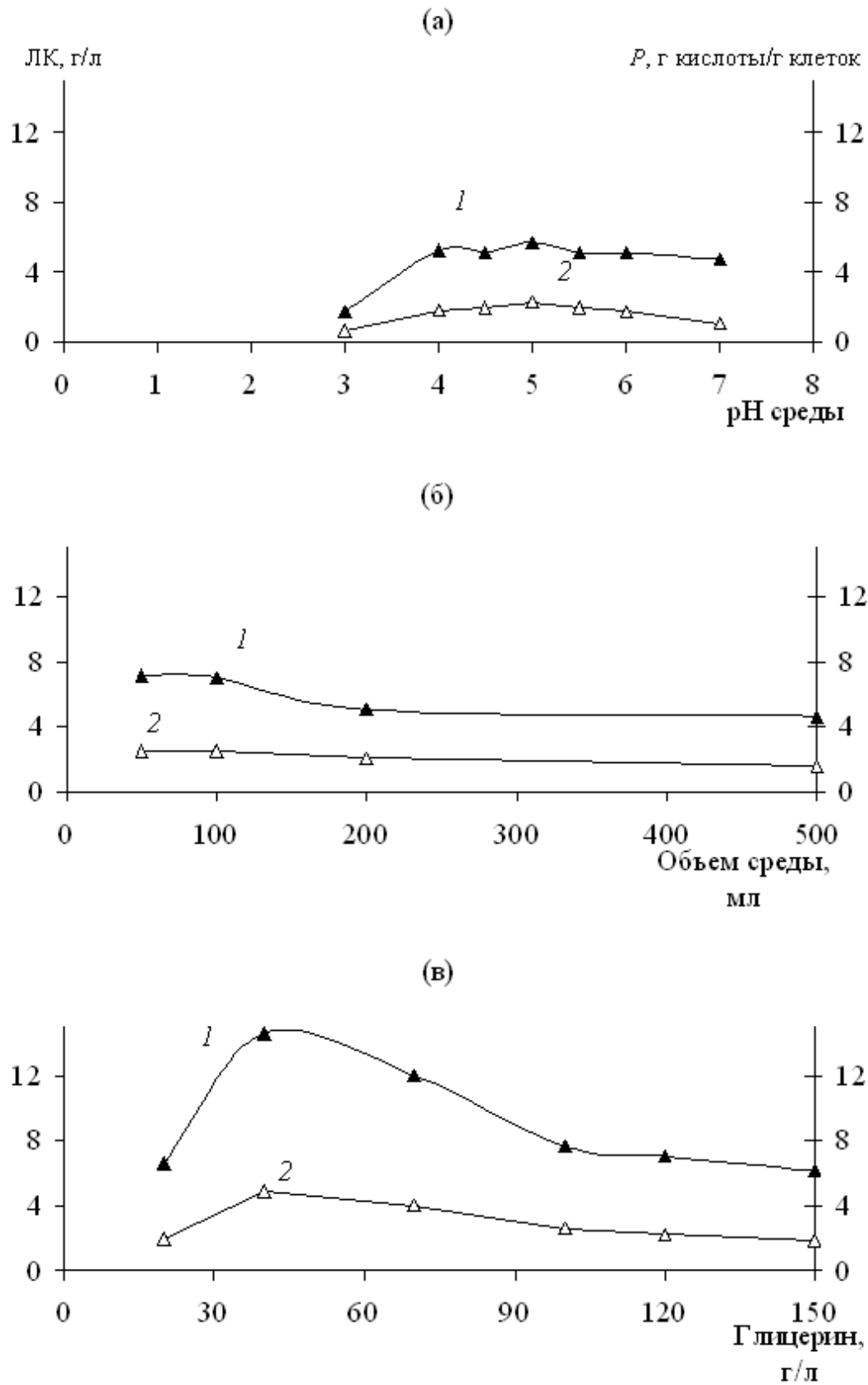


Рис. 2. Влияние pH среды (а), аэрации (б) и содержания глицерина (в) на биосинтез ЛК у *Y. lipolytica* 704:  
1 – концентрация ЛК,  
2 – продуктивность биомассы (P)

оптимальное значение рН среды составляет 5,5 [16]. При культивировании на рапсовом масле при рН=6 происходит преимущественное накопление ЛК, в то время как при рН=4,5 накапливаются примерно равные количества ЛК и ИЛК [8].

Следует отметить, что образование ЛК у дрожжей идет при более высоких значениях рН=4,5–6,0, чем у грибов (рН=2). Полагают, что рН, скорее всего, не оказывает непосредственного влияния на механизм образования ЛК, но от его значения зависит проницаемость клеточной мембраны для субстрата и продукта [17].

Для изучения влияния аэрации среды культивирование дрожжей проводили при оптимальном значении рН=5,0. Различные уровни интенсивности аэрации создавали изменением объема среды в колбах — 50, 100, 200 и 500 мл.

Биосинтез ЛК осуществлялся при всех исследованных объемах среды в колбах. При культивировании в колбах с 50 и 100 мл среды клетки синтезировали 7,02–7,17 г/л ЛК. В среде с низким содержанием кислорода (200 мл среды) количество ЛК было снижено в 1,5 раза, а при еще более низком обеспечении клеток кислородом (500 мл среды) накопление ЛК практически отсутствовало.

Таким образом, максимальный синтез ЛК дрожжами *Y. lipolytica* в среде с глицерином происходил только в условиях интенсивной аэрации среды.

Аналогичная картина наблюдалась и на других субстратах. Экспериментальным путем доказано, что в экспоненциальной фазе роста для *S. lipolytica*, растущих на n-алканах, в ферментационной среде должно поддерживаться насыщение кислородом на уровне 60%, а в период интенсивного биосинтеза — на уровне 40–60% [18].

Для мутанта *S. lipolytica* Y 1095, растущего на глюкозе, было показано [19], что повышение содержания кислорода с 20 до 80% от насыщения приводило к увеличению удельной скорости синтеза ( $q_{LK}$ ) в два раза и продуктивности процесса — в 1,6 раз. У дрожжей, растущих на этаноле, было обнаружено, что оптимальная концентрация растворенного кислорода в условиях сверхсинтеза ЛК лежит в пределах 20–60% от насыщения [7].

Влияние концентрации глицерина в диапазоне от 20 до 150 г/л на синтез ЛК у *Y. lipolytica* 704 исследовали при рН=5,0 и объеме среды в колбе 50 мл. Все исследуемые концентрации глицерина обеспечивали высокое накопление ЛК (более 6,16 г/л). Максимальное накопление

ЛК (14,6 г/л) наблюдалось при концентрации глицерина 40 г/л. Повышение концентрации глицерина свыше 100 г/л снижало накопление ЛК в 2 раза в сравнении с кислотообразованием при 40 г/л глицерина.

При выращивании *S. lipolytica* — продуцентов пировиноградной кислоты — также обнаружено ингибирующее действие глицерина в концентрации 100 г/л на синтез кислоты [20]; продуцент с наибольшей эффективностью усваивал питательную среду, содержащую 20–40 г/л глицерина [11].

Однако для специально селекционированного мутантного штамма *Y. lipolytica* 1,31 — продуцента ЛК [16] — показано, что глицерин в концентрации 200 г/л не тормозит рост дрожжей и синтез ЛК.

Таким образом, для отобранного нами штамма *Y. lipolytica* 704 — продуцента ЛК из глицерина — оптимальными условиями культивирования являются: рН среды 5,0, высокая аэрация, концентрация глицерина в среде на уровне 20–70 г/л.

#### Биосинтез ЛК *Y. lipolytica* 704 в ферментере.

Дальнейшие эксперименты были связаны с изучением кислотообразующей активности штамма *Y. lipolytica* 704 в условиях лимитирования роста клеток азотом в 10-литровом ферментере с исходным объемом среды 5 л при рН=5,0 и концентрации растворенного кислорода 60% насыщения. В начале культивирования в среду вносили 40 г/л глицерина и далее при снижении концентрации глицерина ниже 5 г/л дробно вносили глицерин (по 40 г/л).

На рисунке 3 представлены динамика роста культуры, потребления азота, накопления ЛК и ИЛК, динамика удельной скорости роста ( $\mu$ ) и удельная скорость синтеза ЛК ( $q_{LK}$ ).

Через 6 ч после засева наблюдалось активное размножение клеток. Наряду с увеличением биомассы клеток уменьшалось содержание азота и глицерина в среде. Максимальная удельная скорость роста ( $\mu_{max}$ ) отмечалась на 6 ч культивирования и составляла 0,649 ч<sup>-1</sup>, что выше значений, полученных другими авторами для дрожжей *Y. lipolytica*, растущих на глицерине (0,2 ч<sup>-1</sup>) [10, 16].

В экспоненциальной фазе роста выделения ЛК и ИЛК не происходило. Их экскреция начиналась одновременно со снижением  $\mu$  до 0,171 ч<sup>-1</sup> и продолжалась непрерывно в фазе замедления и в стационарной фазе после прекращения роста культуры. Интенсивность кислотообразования увеличивалась очень быстро и достигала максимальной величины, когда  $\mu$  снижается до 0,04–0,06 ч<sup>-1</sup>.

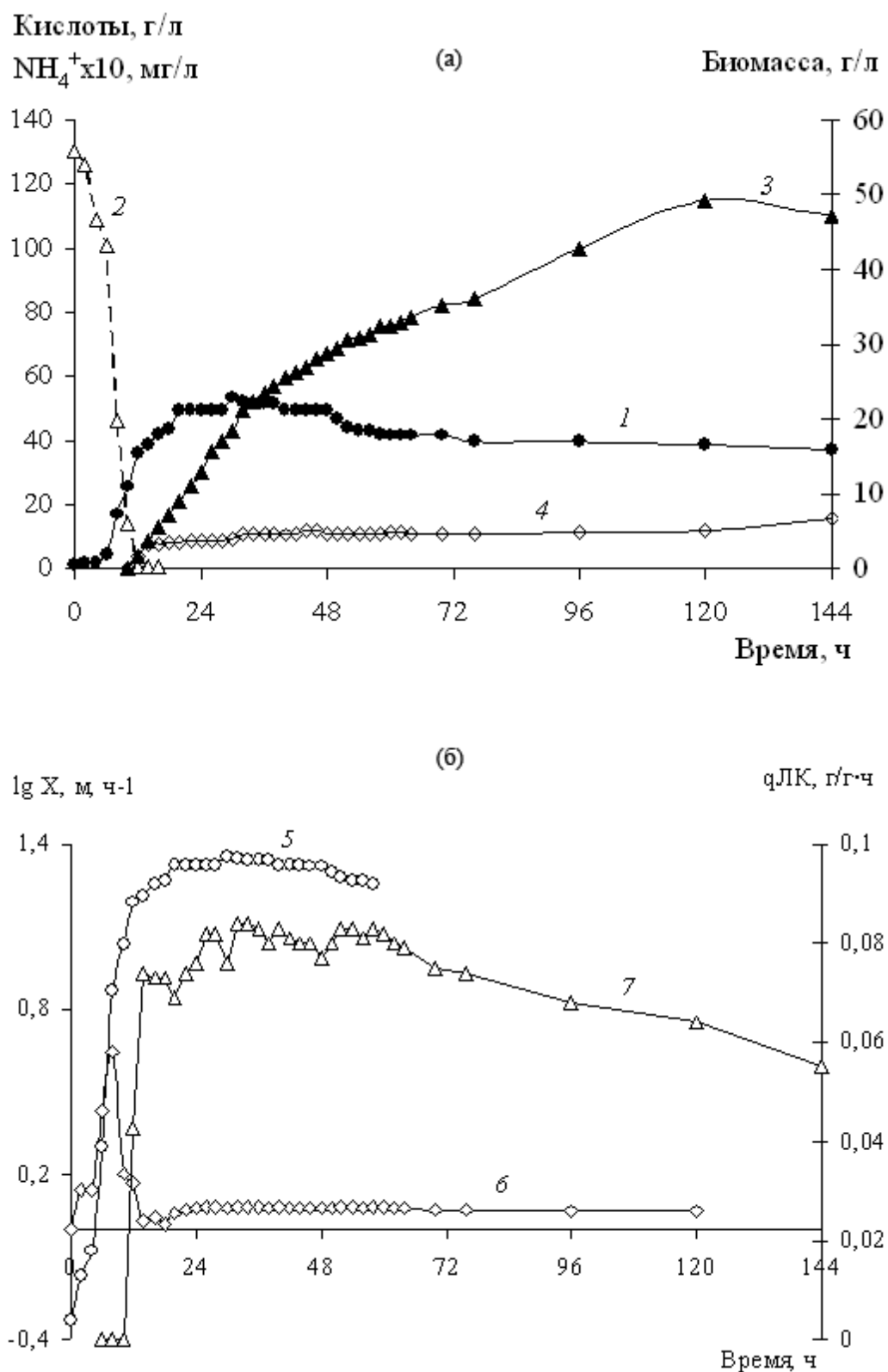


Рис. 3. Рост и синтез ЛК у *Y. lipolytica* 704 на среде с глицерином:  
 а) 1 – биомасса; 2 – азот; 3 – ЛК; 4 – ИЛК;  
 б) 5 –  $\lg X$ ; 6 –  $\mu$ ; 7 –  $q_{\text{ЛК+ИЛК}}$



К концу культивирования (144 ч) накапливалось 110 г/л ЛК и 15 г/л ИЛК — побочного продукта ферментации; соотношение ЛК:ИЛК составляло 7,33:1. Объемная продуктивность процесса биосинтеза ЛК, выраженная как количество ЛК в 1 л культуральной жидкости, продуцируемое клетками в течение 1 ч, была высокой (1,62 г/л·ч) и сравнима с данными, представленными в литературе в отношении биосинтеза ЛК другими штаммами дрожжей *Y. lipolytica* [8, 13]. Выход  $Y_{\text{ЛК}}$  от потребленного глицерина составил 0,58 г/г (58%). Ранее при изучении биосинтеза ЛК у мутантного штамма *Y. lipolytica* N 1, растущего на этаноле [13] и рапсовом масле [8], были получены более высокие выходы  $Y_{\text{ЛК}}$ , равные 0,87 г/г (87%) и 1,25 г/г (125%), соответственно.

Так как равные количества различных органических субстратов имеют разную энергетическую емкость, неправомерно сравнивать значения  $Y_{\text{ЛК}}$ , полученные при культивировании дрожжей на разных субстратах.

Для сравнения эффективности кислотообразования на различных субстратах был рассчитан энергетический выход ( $\eta_{\text{ЛК}}$ ) процесса, который характеризует долю энергии субстрата, перешедшую в кислоту. В наших экспериментах с дрожжами *Y. lipolytica*, растущими на глицерине,  $\eta_{\text{ЛК}}$  равен 0,36, в то время как величина  $\eta_{\text{ЛК}}$  при росте на рапсовом масле составляла 0,26 [8], а на этаноле — 0,22 [13].

Результаты настоящего исследования показывают, что глицерин является перспективным субстратом для микробиологического получения ЛК. ЛК или ее соль, цитрат натрия, являются одними из широко применяемых в различных отраслях промышленности органических веществ.

Наряду с традиционным использованием этих веществ в пищевой, химической, фармацевтической промышленности в последние годы резко возросла потребность в цитрате натрия в связи с устойчивой мировой тенденцией частичной или полной замены в составах синтетических и технических моющих средств активной добавки — триполифосфата натрия, попадание которого в водоемы резко ухудшает их экологическое состояние.

## Литература

- Soccol C.R., Vandenberghe L.P.S., Rodrigues C., Pandey A. // Food Technol. Biotechnol. — 2006. — N 44. — P. 141–149.
- Meers J.L., Milsom P.E. / In: Basic Biotechnology. J. Bu'Lock, B. Kristiansen (Eds.). — Academic Press, Orlando, FL, USA, 1987. — P. 359–383.
- Финогорова Т.В., Моргунов И.Г., Камзолова С.В., Чернявская О.Г. // Прикл. биохимия и микробиология. — 2005. — Т. 41. — № 5. — С. 478–486.
- Лозин А.Б., Финогорова Т.В. // Журнал Всес. хим. общества им. Д.И. Менделеева. — 1972. — Т. 17. — № 5. — С. 526–532.
- Финогорова Т.В., Илларионова В.И., Лозин А.Б. // Микробиология. — 1973. — Т. 42. — № 5. — С. 90–94.
- Лозин А.Б., Финогорова Т.В., Глазунова Л.М., Илларионова В.И. // Микробиология. — 1974. — Т. 43. — № 5. — С. 786–790.
- Kamzolova S.V., Shishkanova N.V., Morgunov I.G., Finogenova T.V. // FEMS Yeast Research. — 2003. — Vol. 3. — P. 217–222.
- Камзолова С.В., Финогорова Т.В., Лунина Ю.Н., Перевозникова О.А., Миначова Л.Н., Моргунов И.Г. // Микробиология. — 2007. — Т. 76. — № 1. — С. 26–32.
- Anastassiadis S., Rehm H.J. // Electronic J. Biotechnol. — 2005. — Vol. 8. — № 2. — P. 146–161.
- Ермакова И.Т., Шишканова Н.В., Пелцмане И.Ж., Финогорова Т.В., Карклин Р.Я. А.с. № 1321064 // — 1985.
- Morgunov I.G., Kamzolova S.V., Perevoznikova O.A., Shishkanova N.V., Finogenova T.V. // Process Biochemistry. — 2004. — Vol. 39. — P. 1469–1474.
- Burkholder P.R., McVeigh J., Moyer D. // J. Bacteriol. — 1944. — Vol. 48. — P. 385–391.
- Kamzolova S.V., Morgunov I.G., Aurich A., Perevoznikova O.A., Shishkanova N.V., Stottmeister U., Finogenova T.V. // Food Technol. Biotechnol. — 2005. — Vol. 43. — P. 113–122.
- Фаусек Е.А. Физиолого-биохимические особенности биосинтеза изолимонной кислоты дрожжами из этанола: Дисс. канд. биол. наук. Пуцдино ОНТИ ПНЦ РАН, 1995. — 176 с.
- Камзолова С.В., Чистякова Т.И., Дедюхина Э.Г., Шишканова Н.В., Финогорова Т.В. // Микробиология. — 1996. — Т. 65. — № 2. — С. 202–207.
- Rymowics W., Rywinska A., Zarowska B., Juszczyk P. // Chemical Papers. — 2006. — Vol. 60. — P. 391–394.
- Crolla A., Kennedy K.J. // J. Biotechnology. — 2004. — Vol. 110. — P. 73–84.
- Stottmeister U., Kennedy K.J., Gohler W. // Z. Allg. Mikrobiol. — 1981. — Vol. 21. — P. 677–687.
- Rane K.D., Sims K. // Biotechnol. Bioeng. — 1994. — Vol. 43. — P. 131–137.
- Финогорова Т.В., Карклин Р.Я., Ермакова И.Т., Шишканова Н.В., Пелцмане И.Ж. А.с. № 1249063 // — 1985.

## YEAST BIOSYNTHESIS OF CITRIC ACID IN THE MEDIUM WITH GLYCEROL

A.R. FATYKHOVA, S.V. KAMZOLOVA, I.G. MORGUNOV

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

We investigate the ability of 59 strains of yeast genera *Candida*, *Saccharomyces*, *Yarrowia*, *Debaromyces*, *Pichia*, and *Torulopsis* at the growth in the medium with glycerol. The strain *Yarrowia lipolytica* 704 was selected as a producer of citric acid. For strain selection a selective express-method was developed, using agarized medium which contained the limited concentration of amine nitrogen and excess of glycerol. The accent was done on conditions stimulating a citric acid biosynthesis process. It was shown that an accumulation of 110 g/l citric acid took place in culture of the natural strain of *Y. lipolytica*.

*Keywords:* glycerol, overproduction of citric acid, yeast *Yarrowia lipolytica*.

## СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕХАНИЗМОВ ДИАГНОСТИКИ, ПРОГНОЗИРОВАНИЯ И КОРРЕКЦИИ ПОСТАНТИБИОТИЧЕСКИХ ДИСБАКТЕРИОЗОВ КУР И ИНДЕЕК В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННОГО ПТИЦЕВОДСТВА

В.Н. АФОНЮШКИН\*, Е.В. ДУДАРЕВА, М.Л. ФИЛИПЕНКО

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
Новосибирск*

В работе показаны некоторые новые направления совершенствования пробиотических препаратов и методов их применения. Изучен спектр антибиотикорезистентности лактофлоры кур и индеек. Предложена схема профилактики постантибиотических дисбактериозов.

*Ключевые слова:* дисбактериоз, антибиотики, куры, индейки.

Исследования лактобацилл привлекают внимание многих исследователей. Расширяется спектр известных нам полезных свойств лактобацилл, что представляет интерес для биотехнологии ввиду их перспективности для работ по созданию пробиотиков [2, 3, 4].

Представители лактобацилл применяются как продуценты антиоксидантов и средств, понижающих липидную пероксидазу и стимулирующих рост лакто- и бифидофлоры. Эти микроорганизмы обнаруживают противоопухолевую активность, стимулируют различные звенья иммунитета, оказывают выраженным вирусоцидным действием благодаря продукции высокоактивной перекиси водорода [1, 5]. Оральная бактериальная терапия лактобациллами предотвращает возникновение у детей диарей, связанных с назначением им антибиотиков.

Молочнокислые бактерии играют большую роль в пищевой промышленности: в производстве йогуртов, кефира, сыров, творога. Лактобациллы применяются для получения подкислителей, ферментных препаратов, биостимуляторов, витаминов, а также микробного белка для пищевых и кормовых целей [2, 4]. Антибиотическая и пробиотическая активность складывается из действия

продуцируемых ими бактериоцинов, а также органических кислот, спиртов, перекисей и других метаболитов, накапливаемых ими в процессе их роста и развития [3, 6].

Общеизвестен факт негативного действия антибактериальных препаратов на нормофлору кишечника сельскохозяйственной птицы. В то же время можно с уверенностью утверждать о неоднородном действии различных антибактериальных препаратов на различные компоненты нормофлоры.

Данные о спектре антибиотикорезистентности лактобактерий желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственных птиц позволяют эмпирически подобрать антибиотики, не повреждающие нормофлору. А технология определения антибиотикорезистентности условно-патогенной и нормальной микрофлоры уже используется в диагностической практике [10].

С другой стороны, лактобактерии являются доминирующим видом микробиоценоза желудочно-кишечного тракта [11], поэтому существует риск переноса генов антибиотикорезистентности различным представителям условно-патогенной микрофлоры.

### Материалы и методы

Изоляцию лактобактерий из кишечного содержимого осуществляли на среде MRS (Rogosa and Sharpe medium), с последующим субкультивированием на среде АПТ в анаэробных условиях. Количественное определение содержания лактобактерий в содержимом произво-

\* Автор для переписки:

© 2007 г. Афонюшкин В.Н.

кандидат биол. наук,

научный сотрудник группы фармакогеномики

ИХБФМ СО РАН, Новосибирск

Тел.: 8-923-117-64-61

E-mail: lisocim@mail.ru

дили методом серийных разведений навески кишечного содержимого слепой кишки и последующим высевом на среду MRS. Также использовали полуколичественную ПЦР, основанную на методе конкурентного ингибирования с раститрованным внутренним контролем (набор производства фирмы «БиоКом»).

Сальмонеллы детектировали методом ПЦР с использованием тест-системы фирмы «Интерлабсервис».

Принадлежность бактерий к роду *Lactobacillus* определяли по культуральным, морфологическим и биохимическим критериям [4, 7].

Антибиотикорезистентность лактобактерий определяли диско-диффузионным методом на кровяном агаре с селективной добавкой фирмы «Biolot» (г. Москва).

Энтеробактерии выделяли на стандартных средах. Антибиотикорезистентность определяли диско-диффузионным методом и методом серийных разведений. Видовую принадлежность устанавливали с использованием биохимических тестов («ДС Нижний Новгород»).

Секвенирование гена 16S RNA проводили на приборе «Applied biosystem 66 abi prism».

## Результаты

**Изучение спектра антибиотикорезистентности микроорганизмов рода *Lactobacillus*, выделяемых из желудочно-кишечного тракта кур и индеек.** В процессе исследований из кишечника кур и индеек было выделено и охарактеризовано в отношении антибиотикорезистентности 43 изолята, относящихся к роду *Lactobacillus*.

В частности, было установлено, что на птицефабриках Сибирского и Уральского регионов у птицы преобладают лактобактерии, устойчивые к тем или иным антибиотикам.

Большая часть изолятов устойчива к нитрофуранам, гликопептидам и тетрациклинам, около 50% устойчивы к фторхинолонам и относительно редко встречаются изоляты, устойчивые в отношении метронидазола, хлорамфеникола, лактамов, некоторых макролидов и линкозаминов (табл. 1).

В отличие от этих изолятов, культуры лактобактерий, выделенные от кур, не контактирующих с антибиотиками (Новосибирский зоопарк, частный сектор г. Новосибирска), либо из различных пробиотических продуктов (*L. casei*), как правило, были более чувствительны к перечисленным группам антибиотиков, за исключением тетрациклинов и нитрофуранов.

Таблица 1

### Процент выделяемых изолятов лактобактерий с высоким и низким уровнем чувствительности к исследуемым антибиотикам

№ п/п	Антибиотик	Выборка	% (задержка роста >20 мм)	% (задержка роста отсутствует)
1	Ампициллин	16	75	18,75
2	Гентамицин	2	50	—
3	Левомецетин	20	40	15
4	Неомицин	10	40	10
5	Норфлоксацин	5	20	60
6	Оксацillin	21	9,523	61,904
7	Офлоксацин	20	5	60
8	Пенициллин	18	22,22	22,22
9	Польдодоксин	17	23,52	58,82
10	Рифампицин	7	85,71	—
11	Тетрациклин	18	16,66	66,66
12	Тилозин	3	66,66	—
13	Фуразолидон	21	14,28	66,66
14	Цефазолин	2	100	—
15	Энроколи	14	28,57	50
16	Эритромицин	17	29,41	47,05
17	Сульфаниламид	2	—	100
18	Спектиномицин	11	—	63,63
19	Энрофлоксацин	19	—	68,42

С целью изучения адекватности результатов, полученных *in vitro*, мы проанализировали ингибирующую активность антибиотика аминогликозидного ряда в отношении лактобактерий птиц, содержащих устойчивые к терапевтическим концентрациям данного антибиотика изоляты NB 6 и SGP 10.

После аэрозольной и пероральной обработки двух групп птиц данным антибиотиком, по истечении курса, у птиц двух опытных и одной контрольной групп были отобраны пробы кишечного содержимого. Методом количественной ПЦР было оценено содержание геномных эквивалентов лактобактерий в 1 г кишечного содержимого (ГЭ./1 г).

Введение антибиотика аминогликозидного ряда обусловило незначительное снижение содержания лактобактерий в кишечном содержимом с концентрации  $2 \times 10^5$  до  $2 \times 10^{4,8}$  у птицы, получавшей аминогликозиды аэрозольно, и до  $2 \times 10^{4,2}$  геномных эквивалентов лактобактерий (ГЭ./1 г).

**Изучение видовой принадлежности и биологических свойств лактобактерий выделяемых у домашних кур и индеек.** Полученные культуры в настоящий момент тестируются в отношении антагонистической активности, а также проводится определение вида выделенных лактобактерий с использованием метода секвенирования участка ДНК, содержащего спейсер между 16S и 23S генами [2].

К настоящему моменту выделены 7 различных представителей лактофлоры птицы — *L. salivarius* (2 изолята), *L. reuteri* (3 изолята), *Weissella thailandensis* (1 изолят), *W. confusa* (1 изолят).

С целью удешевления методов определения видовой принадлежности изучаются перспективы использования ПЦР-ПДРФ, анализа кривых плавления ампликонов, полученных в результате ПЦР на спейсер между 16S и 23S генами, и анализа кривых плавления гетеродуплексов ампликонов изучаемых изолятов и тест-штаммов.

Предполагается, что выделение и типирование до вида лактобактерий позволят получить матрицу тест-штаммов, пригодную для видовой идентификации выделяемых у кур и индеек изолятов лактобактерий.

Таким образом, собранная коллекция культур может послужить основой для разработки новых пробиотических препаратов, применяемых в период проведения антибиотикотерапии.

Также на двух модельных птицефабриках была проведена оценка антагонистической активности лактофлоры кишечника птицы в отношении микроорганизмов рода *Salmonella* с использованием методов ПЦР, полуколичественной ПЦР и стандартных микробиологических методов [5].

В исследованиях было показано резкое повышение риска инфицирования *S. enterica* у птицы с содержанием лактобактерий в кишечном содержимом в концентрации менее чем  $1 \times 10^4$  кое./г.

### **Разработка комбинированных препаратов пробиотик + витаминно-минеральная подкормка.**

Общеизвестен факт использования пробиотических препаратов в смеси с различными микро- и макроэлементами. Например, селен способен под воздействием пробиотических культур вводиться в состав селеноцистеина, что резко снижает его токсичность.

Также существуют данные о повышенной эффективности усвоения кальция в виде лактатов. Работа по созданию пробиотика, обогащенного кальцием, в настоящее время проводится нами.

На данном этапе исследований нами была изучена чувствительность лактобактерий к различным концентрациям марганца (0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1%). Рост тестируемых культур не ингибировался даже при 1% содержании марганца в питательной среде МРС. Марганец важен для формирования соединительной ткани у сельскохозяйственной птицы, прочности скорлупы яиц.

Ввиду того, что патология опорно-двигательного аппарата часто встречается в бройлерном птицеводстве, а недоразвитость сердечно-сосудистой системы, в частности клапанного аппарата, слабость стенок аорты, широко распространена среди индеек, разработка биоплексных форм препаратов марганца представляет некоторый коммерческий интерес.

Следует также отметить, что высокая химическая активность неорганических соединений марганца нередко приводит к разрушению витаминов, вводимых в рацион кур с премиксами и витаминно-минеральными добавками.

### **Разработка комбинированных препаратов пробиотик + антибиотик.**

Факт наличия коллекции антибиотикорезистентных лактобактерий побудил авторов работы к поиску штаммов, способных выдерживать тысячекратные концентрации антибиотиков, что позволило бы вводить в организм птицы пробиотик и антибиотик одновременно, в виде одного комбинированного препарата.

На данный момент нам удалось найти штамм лактобактерий, выдерживающий концентрации колистина, используемые при приготовлении маточного раствора этого антибиотика (рис. 1).

Тестирование активности препарата колистина, инкубированного в течение 1 недели в составе пробиотического продукта, показало сохранение биологических свойств антибиотика. При тестировании антагонистической активности комбинированного препарата колистин-пробиотик спектр антагонистической активности, ассоциируемой с колистином, всегда сохранялся; в одном



случае наблюдался синергизм культуральной жидкости пробиотического штамма и колистина в отношении *E. agglomerans* (рис. 1).



Рис. 1. Зоны задержки роста различных тест-штаммов *Enterobacteriaceae* в присутствии колистина (1), культуральной жидкости пробиотического штамма (3) и смеси колистин-культуральная жидкость (2)

### Заключение

Длительное использование антибактериальных препаратов в птицеводстве существенно повысило антибиотикорезистентность нормофлоры сельскохозяйственной птицы, что позволяет снизить риск развития дисбактериоза при использовании некоторых антибиотиков.

Наблюдаемые особенности лактофлоры сельскохозяйственной птицы создают предпосылки для получения новых типов пробиотических препаратов, в том числе комбинированных с антибиотиками. Данному направлению уделяется внимание в литературе [12, 13, 14].

### Литература

1. Баякышева К., Ратникова И.А., Гаврилова Н.Н. Кислообразующая активность молочнокислых и бифидобактерий в зависимости от состава питательной среды // Биотехнология. Теория и практика. 2001. — № 3–4. — С. 23–25.

2. Горская Е.М., Лизько Н.Н., Леунер А.А. и др. Биологическая характеристика штаммов лактобацилл, перспективных в качестве эубиотиков // Журн. микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. — 1992. — № 3. — С. 17–21.

3. Дудикова Г.Н. Биотехнологические основы использования лактобацилл для защиты зернопродуктов от бактериальной контаминации. Дисс. на соискание уч. ст. доктора биол. наук, Алматы, 2002.

4. Квасников Е.И., Нестеренко О.А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. — М.: Наука, 1975. — 390 с.

5. Лихачева А.Ю. Биологические свойства лактобацилл и тест-системы для их идентификации. Дисс. на соискание уч. ст. канд. мед. наук, Н.-Новгород, 1992.

6. Лыкова Е.А. Антибактериальная резистентность штаммов, входящих в состав препаратов пробиотиков // Микробиол. журн. — 2000. — № 2. — С. 63–65.

7. Пикина А.П., Смянов В.В., Ефимов Б.А. и др. Первичный скрининг штаммов бифидобактерий и лактобактерий с целью разработки на их основе эффективных препаратов — пробиотиков // Микробиол. журн. — 1999. — № 6. — С. 34–38.

8. Определитель бактерий Берджи / Под ред. Дж. Хоулта. — М.: Мир. 1997.

9. Miteva V, Boudakov I, Ivanova-Stoyancheva G, Marinova B, Mitev V, Mengaud J. Differentiation of *Lactobacillus Delbrueckii* subspecies by ribotyping and amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) // J. of Applied Microbiology. — 2001. — Vol. 90. — P. 909–918.

10. Dick van Soolingen, Petra E.W. de Haas, Peter W.M. Hermans et al. // Methods in Enzymology. — 1994. — Vol. 235. — P. 196–205.

11. Cardinale Massimiliano, Brusetti Lorenzo, Quatrini Paola, et al. Comparison of different primer sets for use in automated ribosomal intergenic spacer analysis of complex bacterial communities // Applied and Environmental Microbiology. — 2004 Oct. — P. 6147–6156.

12. Mamber S.W., Katz S.E. Effects of antimicrobial agents fed to chickens on some gram-negative enteric bacilli // Applied and Environmental Microbiology. — 1985 Sept. — P. 638–648.

13. Mota R.M., Moreira J.L., Souza M.R., Horta M.F., Teixeira S.M., Neumann E., Nicoli J.R., Nunes A.C. Genetic transformation of novel isolates of chicken *Lactobacillus* bearing probiotic features for expression of heterologous proteins: a tool to develop live oral vaccines // BMC Biotechnol. — 2006 Jan 5. — Vol. 6. — N 2. — <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1472-6750-6-2.pdf>.

14. Kizerwetter-Swida M., Binek M. Selection of potentially probiotic *Lactobacillus* strains towards their inhibitory activity against poultry enteropathogenic bacteria // Pol. J. Microbiol. — 2005. — Vol. 54(4). — P. 287–294.

**IMPROVEMENT OF MECHANISMS OF DIAGNOSTICS,  
FORECASTING AND CORRECTION OF POSTANTIBIOTIC  
DYSBACTERIOSES IN HENS AND TURKEYS  
UNDER CONDITIONS OF INDUSTRIAL POULTRY FARMING**

V.N. AFONJUSHKIN, E.V. DUDAREVA, M.L. FILIPENKO

*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch  
of the Russian Academy of Science, Novosibirsk*

In work some new directions of the improvement of probiotic preparations and methods of their application were shown. The antimicrobial resistance spectrum of *Lactobacillus* in hens and turkeys was studied. The scheme of prevention of postantibiotic dysbacterioses was offered.

*Keywords:* disbacterioses, antibiotics, hens, turkeys.

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ РЕСТРИКЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ХРОМОСОМНОЙ ДНК МЫШИ *IN VITRO* И *IN SILICO*

В.А. ЧЕРНУХИН\*, М.А. АБДУРАШИТОВ, В.Н. ТОМИЛОВ,  
Д.А. ГОНЧАР, С.Х. ДЕГТЯРЕВ

НПО «СибЭнзим», Новосибирск

На основе ранее предложенного метода рестрикционного анализа геномов млекопитающих *in silico* рассчитаны диаграммы распределения фрагментов хромосомной ДНК мыши при ее расщеплении по 17 нуклеотидным последовательностям, являющимися сайтами узнавания эндонуклеаз рестрикции. Проведен анализ имеющихся в базе данных нуклеотидных последовательностей LINE1 повторов мыши и фрагментов ДНК, образующихся при расщеплении этих повторов. Установлено, что абсолютное большинство пиков на диаграммах расщепления хромосомной ДНК соответствует аналогичным пикам, образуемым при расщеплении множества LINE1 повторов ДНК мыши по тем же нуклеотидным последовательностям. Получены экспериментальные картины гидролиза ДНК мыши соответствующими эндонуклеазами рестрикции. Проведено сравнение теоретически рассчитанных диаграмм распределения фрагментов и полученных картин гидролиза ДНК эндонуклеазами рестрикции. Показано, что при анализе препаратов ДНК с помощью электрофореза в геле визуализируются только продукты расщепления LINE1-повторов и  $\gamma$ -сателлитной ДНК мыши. Проведены эксперименты по гидролизу хромосомной ДНК мыши 5-метилцитозин-зависимыми сайт-специфическими эндонуклеазами BslI, Glal и GluI.

**Ключевые слова:** ДНК-повторы, рестрикционный анализ, метилзависимые эндонуклеазы, эукариотический геном, *Mus musculus*.

В настоящее время первичная структура эухроматиновой части генома мыши определена более чем на 96% [1], что позволяет анализировать структуру ДНК *in silico*.

Ранее нами был предложен метод проведения рестрикционного анализа ДНК млекопитающих *in silico* путем построения диаграмм распределения фрагментов, получаемых при расщеплении хромосомной ДНК по сайтам узнавания эндонуклеаз рестрикции (ЭР) [2]. Для ряда последовательностей ДНК (5'-CCWGG-3', 5'-GATC-3', 5'-GGCC-3' и 5'-CCGG-3') были получены такие диаграммы расщепления хромосомной ДНК крысы, мыши и человека и проведено сравнение теоретических расчетов с экспериментальными результатами по гидролизу хромосомных ДНК эндонуклеазами рестрикции Bst2UI, Kzo9I, HaeIII и MspI, имеющими эти сайты узнавания. В дальнейшем нами был проведен сравнительный рестрикционный анализ расщепления

геномной ДНК крысы [3] и человека [4] и показано хорошее соответствие картин рестрикции *in vitro* и *in silico*.

Целью настоящей работы явилось получение диаграмм распределения фрагментов при расщеплении хромосомной ДНК мыши по 17 сайтам узнавания, включая 4-, 5- и 6-нуклеотидные последовательности и сравнение полученных данных с результатами гидролиза ДНК соответствующими эндонуклеазами рестрикции.

### Материалы и методы

**Хромосомная ДНК мыши.** В экспериментах использовали мышей-самцов линии А/Не в возрасте 5–6 месяцев разведения вивария ИЦиГ СО РАН. Геномная ДНК из печени животных выделялась, как описано ранее [3].

**Гидролиз хромосомной ДНК.** В работе использовали следующие сайт-специфические эндонуклеазы производства НПО «СибЭнзим» (в скобках указан сайт узнавания соответствующей эндонуклеазы):

AcsI (5'-RAATTY-3'), AspA2I (5'-CCTAGG-3'), AspS9I (5'-GGNCC-3'), BglII (5'-AGATCT-3'), BslI (5'-GmCNGmC-3'), Bme18I (5'-GGWCC-3'),

\* Автор для переписки

© 2007 г. Чернухин Валерий Алексеевич

НПО «СибЭнзим»

630117 Новосибирск, ул. Акад. Тимакова, 2/12

Тел./факс: 8-383-333-49-91

E-mail: valera@sibenzyme.ru



Bse3DI (5'-GCAATG-3' и 5'-CATTGC-3'), Bsp19I (5'-CCATGG-3'), Bst2UI (5'-CCWGG-3'), BstFNI (5'-CGCG-3'), BstSCI (5'-CCNGG-3'), BstX2I (5'-RGATCY-3'), EcoRI (5'-GAATTC-3'), EcoRV (5'-GATATC-3'), Fsp4HI (5'-GCNGC-3'), GluI (5'-GmCGmC-3'), GluI (5'-GmCNGmC-3'), HpaII (5'-CCGG-3'), HspAI (5'-GCGC-3'), MspI (5'-CCGG-3'), PspN4I (5'-GGNNCC-3'), RsaI (5'-GTAC-3'), Sse9I (5'-AATT-3'), SspI (5'-AATATT-3') и TaqI (5'-TCGA-3').

ДНК в количестве 6 мкг расщепляли в 40 мкл реакционной смеси в рекомендуемых производителем SE-буферах для рестрикции ДНК при оптимальных температурах в течение 3 ч.

**Электрофорез.** Для выявления фрагментов ДНК длиной от 40 до 500 п.н. использовали электрофорез в 8% полиакриламидном геле (ПААГ) в камере Hoefer SE 600/SE 660 (Amersham USA). На гель наносили 6 мкг гидролизованной ДНК на дорожку. Для выявления фрагментов в диапазоне 200–2000 п.н. использовали 1,5% агарозу «Low melting point» («Sigma», USA). На гель наносили 3 мкг гидролизованной ДНК на дорожку.

Для выявления фрагментов ДНК в диапазоне 500–20000 п.н. применяли электрофорез в 1%-й агарозе «Type I-A, Low EEO» (AG), «Sigma», USA), на гель наносили 3 мкг гидролизованной ДНК на дорожку.

Для разделения фрагментов в диапазоне от 10 до 50 т.п.н. использовали импульсный электрофорез в 1%-ном растворе агарозного геля [5]. На гель наносили 1 мкг ДНК.

В качестве маркера молекулярных масс ДНК использовали 50 kb ДНК маркер, 1 kb ДНК-маркер и pUC19/MspI ДНК маркер производства НПО «СибЭнзим».

Во всех случаях для электрофореза применяли трис-ацетатный буфер (40 mM Трис-ацетат, pH 8,0; 1 mM ЭДТА). После проведения электрофореза ДНК визуализировали бромистым этидием и фотографировали в УФ-свете.

**Данные о нуклеотидной последовательности генома мыши.** Последовательность ДНК мыши была получена с ресурса <ftp://ftp.ensembl.org/pub/> (версия от 2 июня 2006 года).

Нуклеотидная последовательность основного мономерного фрагмента  $\gamma$ -сателлитной ДНК мыши взята из [6].

Последовательности LINE1-повторов были извлечены из базы данных геномной ДНК мыши с помощью сервиса Table Browser на сайте (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTables>) [8].

Полученная выборка LINE1-повторов включала в себя 854172 последовательности с общей длиной  $\approx 510$  млн. п.н.

**Программное обеспечение.** Построение диаграмм распределения фрагментов, получаемых при расщеплении ДНК по сайтам узнавания эндонуклеаз рестрикции, в виде зависимости суммарной массы фрагментов фиксированной длины, выраженной в парах оснований, от длины фрагментов (в парах нуклеотидов) проводили по методике, описанной ранее [2].

## Результаты и обсуждение

**Анализ диаграмм распределения фрагментов ДНК.** Ранее нами были получены диаграммы распределения фрагментов при расщеплении хромосомной ДНК мыши по сайтам узнавания рестриктаз HaeIII (5'-GGCC-3'), MspI (5'-CCGG-3'), Kzo9I (5'-GATC-3') и Bst2UI (5'-CCWGG-3') и показано хорошее соответствие между расчетными данными и результатами экспериментов по гидролизу ДНК этими ферментами [2]. В настоящей работе мы провели построение диаграмм распределения фрагментов, получаемых при расщеплении хромосомной ДНК мыши по более широкому спектру сайтов узнавания, включая и шестинуклеотидные последовательности. В соответствии с предложенным ранее методом [2], диаграммы распределения строились с использованием арктангенсоидной шкалы, имитирующей разделение получаемых фрагментов электрофорезом в агарозном геле. Были отобраны только те диаграммы расщепления, которые содержат пики ДНК фрагментов более 5,5 млн. пар оснований. Как было показано в предыдущей работе [2], именно такие пики визуализируются в эксперименте при анализе продуктов расщепления ДНК электрофорезом в агарозном геле. При этом на визуализацию пиковых фрагментов ДНК может оказывать влияние фон, образованный расщеплением основной массы ДНК и способный частично маскировать эти фрагменты [2].

Всего нами было проанализировано расщепление по 18 сайтам узнавания ЭР, приводящее к образованию ДНК фрагментов с высоким значением пиков.

На рисунке 1 приведены диаграммы распределения фрагментов геномной ДНК мыши, полученные для этих последовательностей узнавания.

Максимальные значения высоты пиков (более 10 млн. п.н.) наблюдаются при расщеплении ДНК по сайтам узнавания ферментов Bse3DI (фрагменты длиной 1059 и 2590 п.н.), Bst2UI и BstSCI (фрагмент длиной

1826 п.н.), *Fsp4HI* (фрагменты длиной 695 и 1613 п.н.), *PctI* (фрагмент длиной 2859 п.н.) и *EcoRI* (фрагмент длиной 1373 п.н.). Визуализация последнего фрагмента была описана в литературе ранее [7]. Полосы ДНК, соответствующие этим фрагментам, хорошо видны на электрофореграммах разделения продуктов гидролиза ДНК данными рестриктазами, которые приведены на рисунке 1 над соответствующими диаграммами распределения.

Остальные фрагменты меньшей интенсивности, отмеченные на диаграммах на рисунке 1, также представлены в виде полос на соответствующих фотографиях гелей при гидролизе ДНК ферментами *AspA2I* (1273, 3343-3344 и 4613 п.н.), *BglII* (876 п.н.), *Bsp19I* (3253 п.н.), *EcoRV* (1883 п.н.), *Fsp4HI* (583 и 1035) и *PspN4I* (444, 508, 716 и 1721 п.н.). При гидролизе ДНК ферментом *Bme18I* на электрофореграмме видны фрагмент 1619 п.н. и дубль фрагментов 809 и 818 п.н. Фрагмент длиной 708 п.н., по-видимому, сливается с фрагментом  $\gamma$ -сателлитной ДНК, имеющим длину около 705 п.н [6].

Электрофореграммы гидролиза ДНК остальными ферментами имеют значительные участки фоновых фрагментов ДНК, которые маскируют полосы ДНК, соответствующие расчетным данным. В частности, при гидролизе ДНК ферментами *Bst2UI* и *BstSCI* маскируются все полосы ДНК, кроме соответствующих фрагментам 1511 и 1826 п.н. При расщеплении ДНК ферментом *BstX2I* на геле видны полосы, соответствующие фрагментам ДНК длиной 203, 397, 508, 514 и 713 п.о., но не видно фрагмента длиной 1856 п.н., который, по-видимому, маскируется фоном. Аналогичная картина наблюдается с ферментом *RsaI*: на электрофореграмме в ПААГ не визуализируются пиковые фрагменты длиной больше 503 п.н.

Как было показано нами ранее [3], явление кластеризации близко лежащих фрагментов ДНК позволяет в ряде случаев визуализировать пиковые фрагменты с высотой менее 5,5 млн. п.н. На рисунке 1 приведена картина гидролиза ДНК ферментом *SspI*, на которой видна полоса ДНК, соответствующая фрагменту длиной 1037 п.н. Однако данный фрагмент в диаграмме расщепления имеет пиковое значение только 3,7 млн. п.н., что ниже вышеуказанной критической высоты пика. Визуализация соответствующей полосы на электрофореграмме связана с наличием сразу нескольких фрагментов, близких по размерам, но существенно меньшей интенсивности, что хорошо видно на более детальной диаграмме распределения фрагментов хромосомной ДНК (рис. 2).

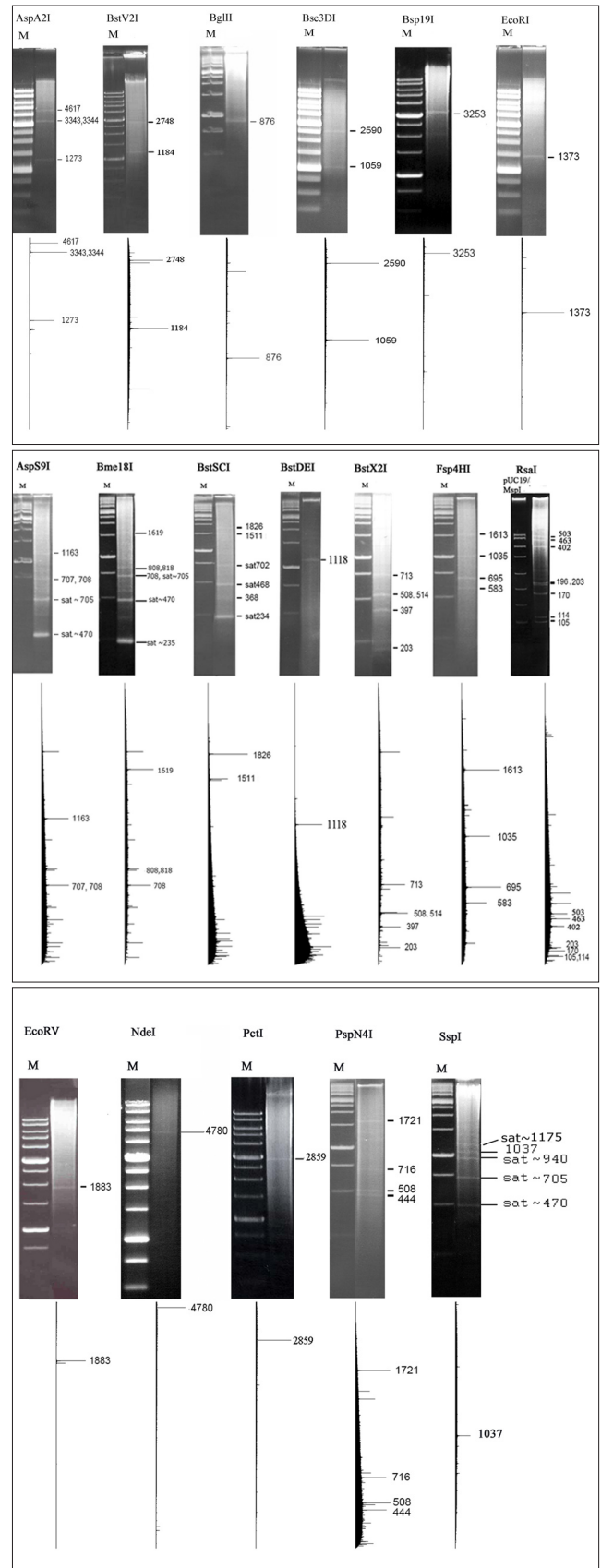


Рис. 1. Сравнение теоретически рассчитанных диаграмм распределения фрагментов геномной ДНК и электрофореграмм, полученных при гидролизе ДНК

соответствующими эндонуклеазами рестрикции. Электрофорез продуктов гидролиза ДНК ферментами AspA2I, BstV2I, BglII, Bse3DI, Bsp19I, EcoRI, EcoRV, NdeI, PstI проводился в 1% агарозном геле, ферментами PspN4I, SspI, AspS9I, Bme18I, BstSCI, BstDEI, BstX2I, Fsp4HI) — в 1,5% агарозном геле и RsaI — в ПААГ. Название фермента указано над фотографией геля. М — 1 kb маркер молекулярных масс ДНК.

На диаграммах числами указаны размеры пиковых фрагментов, образуемых при сайт-специфическом расщеплении хромосомной ДНК мыши (п.н.). Высота пика соответствует количеству нуклеотидов во всех фрагментах данной длины (п.н.)

Как видно из рисунка 1, в случае некоторых ЭР (AspS9I, Bme18I, Bst2UI, BstSCI и SspI) на электрофореграммах хорошо заметны полосы ДНК, которые не соответствуют никаким пиковым фрагментам, представленным на соответствующих диаграммах и, по-видимому, являются продуктами гидролиза  $\gamma$ -сателлитной ДНК мыши [6], не представленной в базе данных геномной ДНК [1].

На рисунке 1 также видно, что яркость этих полос ДНК на фотографии гелей существенно выше свечения фрагментов, получаемых при расщеплении геномной ДНК. Это связано с высоким количеством повторов в сателлитной ДНК и более высокой долей этой ДНК в суммарном препарате ДНК мыши по сравнению с хромосомной ДНК крысы и человека [3, 4]. По некоторым оценкам, доля  $\gamma$ -сателлитной ДНК мыши составляет примерно 10% от общего количества хромосомной ДНК [6].

При гидролизе хромосомной ДНК ферментами AspS9I, Bme18I, BstSCI и Bst2UI происходит выщепление фрагмента, электрофоретическая подвижность которого соответствует длине так называемого основного фрагмента  $\gamma$ -сателлитной ДНК мыши длиной 235 п.н. [6] (рис. 3).

Сайты узнавания этих ферментов представлены в нуклеотидной последовательности основного мономерного фрагмента в позициях 1, 1, 4 и 4, соответственно, и гидролиз tandemных повторов сателлитной ДНК по этим позициям приводит к образованию фрагмента 235 п.н. [6]. Расщепления  $\gamma$ -сателлитной ДНК мыши с образованием такого фрагмента наблюдается также при гидролизе ферментами BstF5I (5'-GGATG-3', позиция 166), FstI (5'-CATG-3', позиция 150), Sse9I (5'-AATT-3', позиция 98), AcsI (5'-RAATTY-3', позиция 97). Кроме того, как было описано в литературе [6], в результате гид-

ролиза сателлитной ДНК образуются также фрагменты кратной длины ( $\approx 470$  п.н.,  $\approx 705$  п.н. и т.д.), состоящие из двух или нескольких мономерных фрагментов.

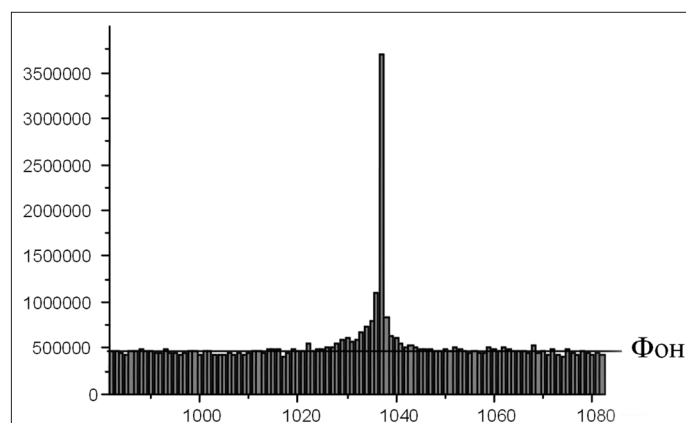


Рис. 2. Диаграмма распределения фрагментов, получаемых при расщеплении геномной ДНК мыши по последовательности 5'-ААТАТТ-3'.

Обозначения на диаграмме:

ось X — длины фрагментов, образуемых при сайт-специфическом расщеплении хромосомной ДНК мыши (п.н.);

ось Y — величины пиков, образуемых при сайт-специфическом расщеплении хромосомной ДНК мыши (п.н.)

На электрофореграмме на рисунке 3 практически на всех дорожках видны такие димеры, тримеры и даже тетрамеры основного фрагмента сателлитной ДНК. Наличие мультимерных фрагментов сателлитной ДНК, очевидно, связано с высокой вариабельностью первичной структуры этой ДНК и изменением нуклеотидной последовательности в сайтах узнавания рестриктаз. Из-за этого не в каждом повторе происходит гидролиз ДНК по соответствующим позициям и, как результат, образуются димеры, тримеры и т.д. При этом для разных ферментов наблюдается различное распределение мультимерных фрагментов по длинам, что, по-видимому, связано с размерами сайта узнавания фермента. В частности, фермент AcsI имеет расширенный сайт узнавания фермента Sse9I и количество тримеров и тетрамеров, наблюдаемое в случае гидролиза ДНК ферментом AcsI, больше, а мономера — меньше, чем в случае расщепления ДНК ферментом Sse9I. На картине гидролиза ДНК ферментом SspI, который узнает шестинуклеотидный невырожденный сайт узнавания, видны фрагменты, соответствующие по длине димеру (470 п.н.), тримеру (705 п.н.), тетрамеру (940 п.н.) и даже пентамеру (1175 п.н.), но почти не заметна полоса, соответствующая основному мономерному



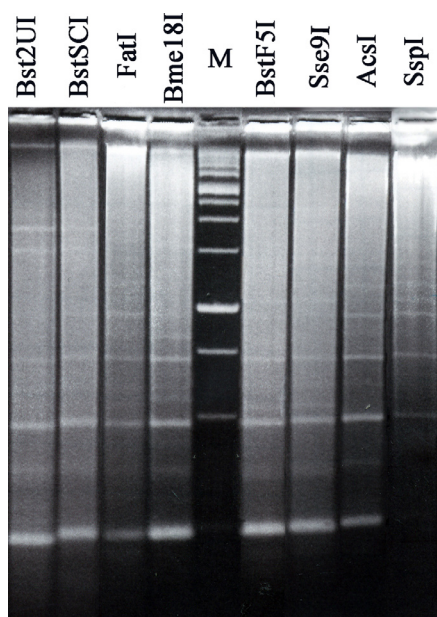


Рис. 3. Гидролиз ДНК мыши эндонуклеазами рестрикции. Название используемых ферментов указано над дорожкой геля. Электрофорез в 1,5% агарозе в ТАЕ-буфере. М – 1 kb маркер молекулярных масс ДНК

фрагменту  $\gamma$ -сателлитной ДНК. Следует также отметить слабый гидролиз как сателлитной, так и геномной ДНК ферментом *FatI*. Видимые на фотографии геля полосы мономерного и полимерных фрагментов сателлитной ДНК, образуемые при обработке ДНК ферментом *FatI*, существенно слабее по сравнению с картиной расщепления ДНК другими мелкоцепляющими ферментами, что говорит о значительной мутационной изменчивости узнаваемой последовательности 5'-CATG-3'.

Таким образом, часть фрагментов ДНК, представленных на электрофореграммах более яркими полосами, образуется в результате расщепления  $\gamma$ -сателлитной ДНК мыши.

Меньшая по интенсивности, но значительно более разнообразная часть рестрикционных фрагментов получается при расщеплении эухроматиновой части ДНК мыши, состоящей из рассеянных повторов. Короткие и длинные диспергированные повторы занимают у мыши 39% генома [10]. Наиболее многочисленными повторами у мыши являются длинные диспергированные повторы (LINE), основная часть которых представлена семейством L1-повторов [1], обнаруженных к настоящему времени в большинстве отрядов млекопитающих [9]. Изучаемая нами выборка LINE1-повторов включала в себя более 854 тысяч последовательностей с общей длиной более 500 млн. п.н., что составляет приблизительно 1/5 часть генома мыши [1]. Полноразмерные LINE1-

повторы имеют длину 6–7 т.п.н., однако большинство повторов этого класса представлено укороченными копиями [11] и лишь 5713 имели длину более 6 т.п.н. Ввиду относительно большой длины LINE1 повторов, размеры фрагментов ДНК, образованных при их гидролизе эндонуклеазами рестрикции, существенно различаются.

Отдельные семейства коротких рассеянных повторов (SINE) составляют у мыши в несколько раз меньшую часть генома по сравнению с L1-повторами [1]. В связи с тем, что в выбранных нами условиях анализа продукты расщепления SINE повторов не визуализируются, мы не рассматривали гидролиз SINE повторов в данной работе.

Мы провели сравнение полученных выше диаграмм распределения фрагментов геномной ДНК (см. рис. 1) и диаграмм, рассчитанных для выборки L1-повторов (см. «Материалы и методы»). На рисунке 4 приведены оба типа диаграмм для сайтов узнавания рестриктаз *BglII* и *Asp9I*. Как видно на данном рисунке, все пиковые фрагменты, присутствующие в диаграммах расщепления геномной ДНК, также представлены на диаграммах расщепления L1-повторов.

В большинстве случаев величины пиков фрагментов ДНК, рассчитанные для геномной ДНК, не отличаются от величин пиков, рассчитанных для расщепления выборки L1-повторов (с учетом фона, получаемого при расщеплении геномной ДНК). Так, например, как видно из рисунка 4, высота пикового фрагмента длиной 876 п.н., полученного при расщеплении ДНК по сайту узнавания ЭР *BglII* (5'-AGATCT-3'), практически совпадает в этих двух диаграммах.

Однако в ряде случаев высоты пиковых фрагментов, рассчитанных для L1-повторов, существенно меньше по сравнению со значениями высот пиковых фрагментов на диаграммах, рассчитанных для геномной ДНК. Так, например, при расщеплении по сайту *GGNCC* (сайт узнавания *Asp9I*) фрагмент длиной 708 п.н. имеет значение 8,0 млн. п.н. на диаграмме расщепления геномной ДНК и только 3,6 млн. п.н. — на диаграмме расщепления L1-повторов (рис. 4). Данное расхождение может быть следствием недостаточной представительности выборки L1-повторов.

**Влияние метилирования на гидролиз хромосомной ДНК сайт-специфическими эндонуклеазами.** Одной из основных причин, влияющих на эффективность гидролиза хромосомной ДНК млекопитающих рядом эндонуклеаз рестрикции, является блокирование расщепления ДНК из-за метилирования цитозина в динуклотидах CG. В соматических клетках млекопитающих уровень

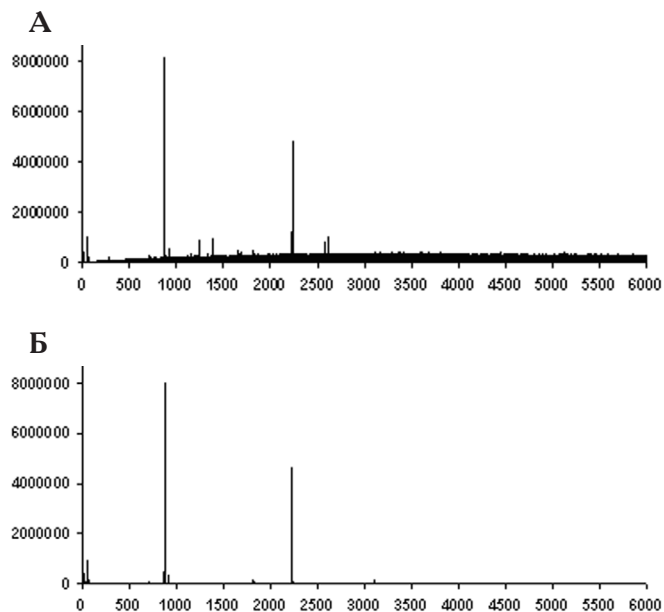
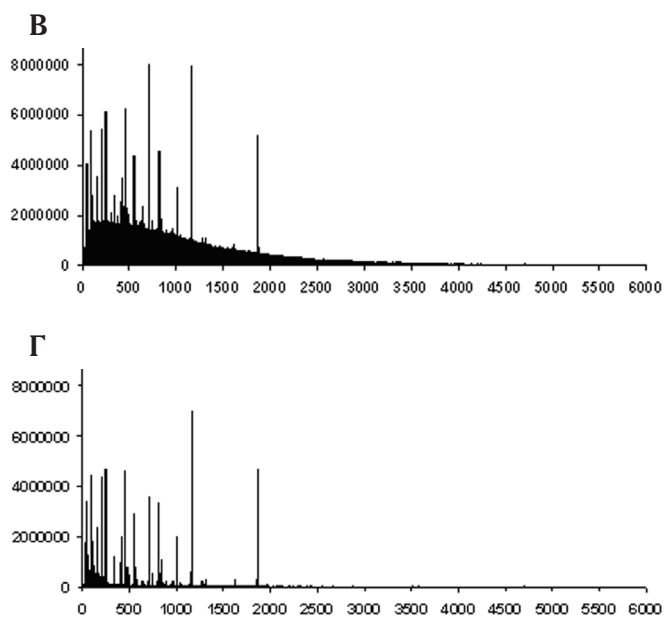
Сайт узнавания *Bgl*III (5'-AGATCT-3')Сайт узнавания *Asp*S9I (5'-GGNCC-3')

Рис. 4. Сравнение теоретически рассчитанных диаграмм распределения фрагментов, получаемых после расщепления геномной ДНК (А, В) и выборки LINE1-повторов (Б, Г).

Обозначения на диаграммах:

ось X — длины фрагментов, образуемых при сайт-специфическом расщеплении геномной ДНК или L1-повторов мыши (п.н.) ферментами *Bgl*III (А, Б) и *Asp*S9I (В, Г);

ось Y — величины пиков, образуемых при сайт-специфическом расщеплении геномной ДНК или L1-повторов мыши (п.н.).

метилирования составляет примерно 70–80% всех CG-пар [12]. Поэтому гидролиз ДНК эндонуклеазами рестрикции, которые содержат в сайте узнавания CG-последовательность, может быть ограничен. Кроме того, как показано для геномов ряда млекопитающих и, в том числе, мыши, доля CG-динуклеотидов в ДНК примерно в 5 раз ниже по сравнению с частотой встречаемости других динуклеотидных последовательностей, состоящих только из нуклеотидов G и C [13, 14]. Поэтому другой причиной, обуславливающей небольшую глубину гидролиза ДНК такими рестриктазами, является более низкая частота встречаемости сайтов узнавания, содержащих CG-динуклеотид [3].

На рисунке 5 показаны результаты расщепления хромосомной ДНК мыши эндонуклеазами рестрикции, у которых в сайте узнавания есть последовательность CG. На рисунке 5А приведена электрофореграмма разделения продуктов гидролиза ДНК, полученная в 1%-ном растворе агарозного геля при постоянном напряжении, а на рисунке 5Б — при переменном напряжении электрического поля (импульсный электрофорез).

Как видно из рисунка 5А, *Hpa*II совершенно незначительно расщепляет ДНК, хотя *Msp*I (другой фермент с этим же сайтом узнавания CCGG, но не чувствительный к CG-метилированию) эффективно расщепляет ДНК мыши. Также метилированием CG-динуклеотидов в геномной ДНК можно объяснить незначительный гидролиз ДНК ферментами *Bst*FNI (сайт узнавания CCGG) и *Hsp*AI (сайт узнавания GCGC).

Использование импульсного гель-электрофореза позволяет разделять фрагменты ДНК в диапазоне до 50000 п.н. [5]. В этом случае, как видно из рисунка 5Б, гидролиз хромосомной ДНК мыши рестриктазами *Hpa*II и *Hsp*AI демонстрируется гораздо четче. При расщеплении этими рестриктазами большинство получаемых фрагментов ДНК имеет размеры в диапазоне от 10 до 50 т.п.н.

В случае ЭР *Bst*FNI расщепление хромосомной ДНК даже при использовании импульсного электрофореза практически не визуализируется. Причина этого, по-видимому, заключается в том, что, в отличие от *Hpa*II и *Hsp*AI, в сайте узнавания *Bst*FNI содержится сразу два динуклеотида CG, что обуславливает более низкую частоту сайтов узнавания *Bst*FNI по сравнению с последовательностями узнавания *Hpa*II и *Hsp*AI. Кроме того, из-за наличия двух CG-динуклеотидов доля сайтов узнавания *Bst*FNI, содержащих метилированный цитозин, существенно выше, по сравнению с сайтами узнавания *Hpa*II и *Hsp*AI.

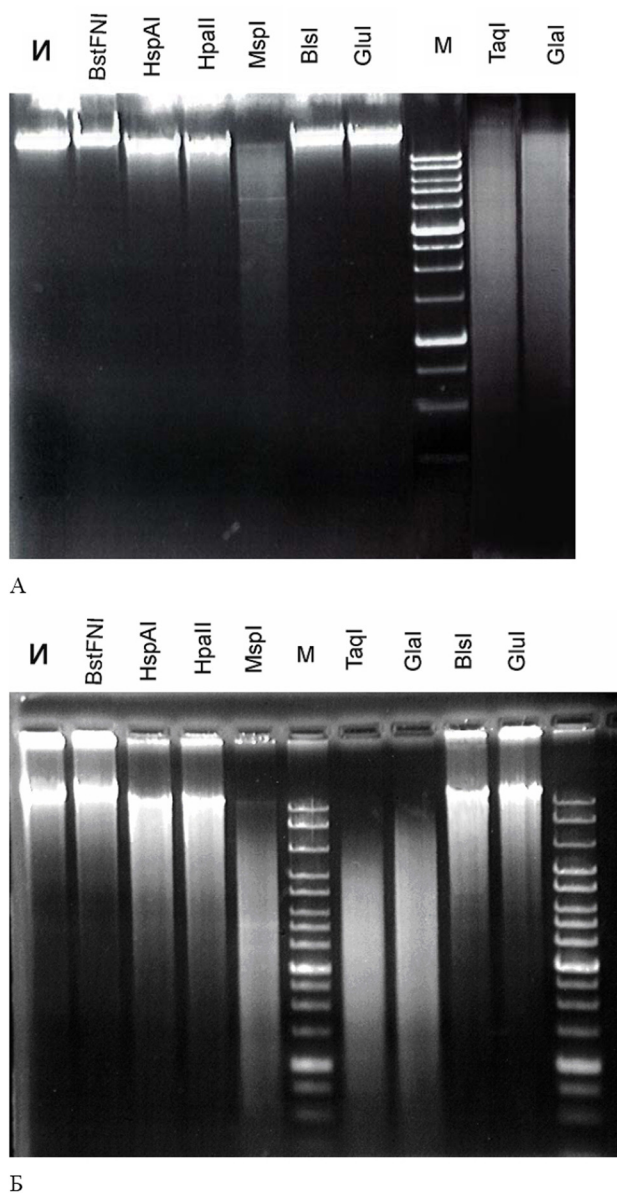


Рис. 5. Гидролиз ДНК мыши эндонуклеазами рестрикции, в сайте узнавания которых есть CG динуклеотид, и метилзависимыми сайт-специфичными эндонуклеазами. Название фермента указано над дорожкой на фотографии геля.

А — электрофорез в АГ при постоянном напряжении электрического поля (М — 1 kb маркер молекулярных масс ДНК).

Б — импульсный электрофорез в АГ (М — 50 kb маркер молекулярных масс ДНК).

И — исходная ДНК

В последние годы появился новый инструмент для анализа статуса метилирования ДНК — сайт-специфичные метилзависимые эндонуклеазы, которые расщепляют ДНК только при наличии в сайте узнавания 5-метилцитозин [15–18].

К таким ферментам относится GluI, эффективно гидролизующий целый ряд различных метилированных четырехнуклеотидных последовательностей ДНК, содержащих от двух до четырех 5-метилцитозин [16, 19].

Кроме того, описаны метилспецифичные ферменты, которые эффективно гидролизуют последовательность ДНК GCNGC с двумя-четырьмя 5-метилцитозинами (BlnI [17]) или только с четырьмя 5-метилцитозинами (GluI [18]). Результаты расщепления этими тремя ферментами ДНК мыши приведены на рисунке 4.

На рисунке 4А представлена электрофореграмма анализа продуктов гидролиза, полученная в стандартных условиях разделения фрагментов ДНК. Как видно из этого рисунка, эффективный гидролиз хромосомной ДНК наблюдается только в случае GluI; при этом глубина ДНК близка к таковой для ферментов MspI и TaqI.

В случае BlnI и GluI гидролиз на приведенной электрофореграмме практически не визуализируется, что связано с низкой частотой встречаемости метилированных сайтов узнавания этих ферментов на хромосомной ДНК. Однако при использовании импульсного электрофореза (рис. 4Б) видно, что BlnI, в отличие от GluI, все-таки гидролизует хромосомную ДНК с образованием высокомолекулярных фрагментов.

Фермент BlnI способен расщеплять метилированные последовательности CGCGGC или GCCGCC, представляющие собой два варианта расширенного на один нуклеотид сайта узнавания (последний подчеркнут). При этом в сайте узнавания появляется два метилированных цитозина. GluI расщепляет последовательность GCNGC только при наличии четырех цитозин и соответственно не способен гидролизовать подобные сайты. Таким образом, в отличие от BlnI, гидролиз ДНК ферментом GluI не возможен из-за недостатка 5-метилцитозин в сайте узнавания.

### Заключение

В работе проведен рестрикционный анализ ДНК мыши *in silico* для широкого спектра последовательностей узнавания, а также получены экспериментальные картины расщепления ДНК соответствующими эндонуклеазами рестрикции. Обнаружено, что экспериментально наблюдаемые фрагменты ДНК являются продуктами расщепления LINE1-повторов и  $\gamma$ -сателлитной ДНК мыши. Теоретически показано существование более чем пятидесяти пиковых значений фрагментов (или кластеров фрагментов) ДНК, получаемых при расщеплении геном-



ной ДНК мыши по 18 нуклеотидным последовательностям, являющимися сайтами узнавания эндонуклеаз рестрикции.

Установлено, что получаемые диаграммы расщепления геномной ДНК мыши в целом соответствуют диаграммам расщепления выборки соответствующих LINE1-повторов, однако для ряда сайтов наблюдается несоответствие величины пиков, получаемых во втором случае.

Приведенное в работе сравнение рассчитанных диаграмм распределения фрагментов ДНК мыши и полученных картин гидролиза ДНК соответствующими ферментами рестрикции показывает хорошее соответствие теоретических и экспериментальных данных.

В ходе электрофоретического анализа продуктов гидролиза хромосомной ДНК мыши метилзависимыми эндонуклеазами выявлено, что наблюдается существенное расщепление ДНК ферментом GluI: значительно более слабое ферментом BlnI, а GluI практически не расщепляет ДНК.

Авторы благодарят к.б.н. В.И. Каледина за помощь в работе с животными и к.б.н. Г.В. Васильева за помощь в выделении ДНК.

## Литература

1. *Mouse Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome // Nature.* — 2002. — Vol. 420. — P. 520–562.
2. Абдурашитов М.А., Томилов В.Н., Чернухин В.А., Гончар Д.А., Дегтярев С.Х. Метод рестрикционного анализа геномов млекопитающих *in silico* // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. — 2006. — Т. 2. — № 3. — С. 29–38.
3. Чернухин В.А., Абдурашитов М.А., Томилов В.Н., Гончар Д.А., Дегтярев С.Х. Сравнительный рестрикционный анализ хромосомной ДНК крысы *in vitro* и *in silico* // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. — 2006. — Т. 2. — № 3. — С. 39–46.
4. Абдурашитов М.А., Чернухин В.А., Томилов В.Н., Гончар Д.А., Дегтярев С.Х. Рестрикционный анализ повторяющихся последовательностей ДНК человека // Медицинская генетика. — 2007. — Т. 6. — № 8. — С. 29–36.
5. Зернов Ю.П., Перминова Л.В., Пустошилова Н.М. Разделение двуниевых молекул ДНК электрофорезом в агарозе с использованием пульсирующего поля // Известия СО АН СССР, серия биологическая. — 1989. — Вып. 2. — С. 104–107.
6. Horz W., Altenburger W. Nucleotide sequence of mouse satellite DNA // *Nucleic Acids Res.* — 1981. — Vol. 9. — P. 683–696.
7. Cheng S.-M., Schildkraut C.L. A family of moderately repetitive sequences in mouse DNA // *Nucleic Acids Res.* — 1980. — Vol. 8. — P. 4075–4090.
8. Karolchik D., Hinrichs A.S., Furey T.S., Roskin K.M., Sugnet C.W., Haussler D., Kent W.J. The UCSC Table Browser data retrieval tool // *Nucleic Acids Res.* — 2004. — Vol. 32 (Suppl. 1). — D493–D496.
9. Hutchison C.A. III, Hardies S.C., Loeb D.D., Shehee W.R., Edgell M.H. LINEs and related retroposons: Long interspersed repeated sequences in the eukaryotic genome / In: *Mobile DNA* (Eds. Berg D.E., Howe M.M.). — American Society for Microbiology, Washington. — 1989. — P. 593–617.
10. Shonbach Ch. From masking repeats to identifying to functional repeats in the mouse transcriptome // *Briefings in bioinformatics.* — 2004. — Vol. 5. — N 2. — P. 107–117.
11. Wincker P., Jubier-Maurin V., Roizes G. Unrelated sequences at 5'-end of the mouse LINE-1 repeated elements define two distinct subfamilies // *Nucleic Acids Res.* — 1987. — Vol. 15. — P. 8593–8606.
12. Ehrlich M., Gama S.M., Huang L.H., Midgett R.M., Kuo K.C., McCune R.A., Gehrke C. Amount and distribution of 5-methylcytosine in human DNA from different types of tissues or cells // *Nucleic Acids Res.* — 1982. — Vol. 10. — P. 2709–2721.
13. Ohno S. Universal rule for coding sequence construction: TA/CG deficiency-TG/CT excess // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1988. — Vol. 85. — P. 9630–9634.
14. Yomo T., Ohno S. Concordant evolution of coding and noncoding regions of DNA made possible by the universal rule of TA/CG deficiency-TG/CT excess // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1989. — Vol. 86. — P. 8452–8456.
15. Чернухин В.А., Наякишина Т.Н., Абдурашитов М.А., Томилова Ю.Э., Мезенцева Н.В., Дедков В.С., Михненко Н.А., Гончар Д.А., Дегтярев С.Х. Новая эндонуклеаза рестрикции GluI узнает метилированную последовательность 5'-GCGC-3' // *Биотехнология.* — 2006. — № 4. — С. 31–35.
16. Томилова Ю.Э., Чернухин В.А., Дегтярев С.Х. Зависимость активности сайт-специфической эндонуклеазы GluI от количества и положения метилированных цитозинов в узнаваемой последовательности 5'-GCGC-3' // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. — 2006. — Т. 2. — № 1. — С. 30–39.
17. Чернухин В.А., Томилова Ю.Э., Чмуж Е.В., Соколова О.О., Дедков В.С., Дегтярев С.Х. Сайт-специфическая эндонуклеаза BlnI узнает последовательности ДНК 5'-G(5mC)NGC-3' и расщепляет ее с образованием 3'-выступающих концов // Вестник биотехнологии и

- физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. – 2007. – Т. 3. – № 1. – С. 28–33.
18. Чернухин В.А., Чмуж Е.В., Томилова Ю.Э., Наякшина Т.Н., Гончар Д.А., Дедков В.С., Дегтярев С.Х. Новая сайт-специфическая эндонуклеаза GluI узнает метилированную последовательность ДНК 5'-G(5mC)NG(5mC)-3'/3'-(5mC)GN(5mC)G-5' // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. – 2007. – Т. 3. – № 2. – С. 13–17.
19. Tarasova G.V., Nayakshina T.N., Degtyarev S.Kh. Substrate specificity on new methyl-directed DNA endonuclease GluI // BMC Molecular Biology. – 2008. – Vol. 9. – P. 7.

*Список сокращений*

ЭР – эндонуклеаза рестрикции, рестриктаза;

ПААГ – полиакриламидный гель;

п.н. – пары нуклеотидов,

т.п.н. – тысяча пар нуклеотидов.

## COMPARATIVE ANALYSIS OF MOUSE CHROMOSOMAL DNA DIGESTION WITH RESTRICTION ENDONUCLEASES IN VITRO AND IN SILICO

V.A. CHERNUKHIN, M.A. ABDURASHITOV, V.N. TOMILOV,  
D.A. GONCHAR, S.Kh. DEGTYAREV

*SibEnzyme SPA, Novosibirsk*

Theoretical diagrams of mouse chromosomal DNA cleavage at 18 nucleotide sequences 4-6 bp in length, which are the recognition sites of restriction endonucleases, have been plotted based on earlier suggested method of mammalian genomes restriction analysis in silico. Analysis of mouse LINE 1 repeats, presented in database, and products of these repeats cleavage at the same nucleotide sequences has been carried out. In general, the diagrams of mouse chromosomal DNA digestion correspond to diagrams of LINE1-repeats cleavage. Mouse chromosomal DNA hydrolysis with restriction endonucleases, which possess the corresponding recognition sites, has been performed. A comparison of DNA hydrolysis patterns and the plotted diagrams has revealed a good correspondence between the experimental and theoretical data. Only LINE1 repeats and satellite DNA cleavage products are visualized in experiments on chromosomal DNA cleavage with subsequent gel-electrophoresis. Mouse chromosomal DNA cleavage with new methyl-dependent site-specific DNA endonucleases BlnI, GluI and GluI has been performed.

*Keywords:* DNA repeats, restriction analysis, methyl-dependent endonucleases, eukaryotic genome, *Mus musculus*.



## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕКОНСТРУИРОВАННЫХ БИОПЛЕНОК ДЛЯ УСКОРЕНИЯ ДЕГРАДАЦИИ УГЛЕВОДОРОДОВ НЕФТИ

Е.А. СТРЕЛКОВА, М.В. ЖУРИНА, В.К. ПЛАКУНОВ\*

*Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва*

В природных экотопах основная часть микроорганизмов существует в виде ассоциаций, определяемых общим термином «биопленки», — пространственно и метаболически структурированных сообществ, заключенных во внеклеточный полимерный матрикс и расположенных на границе раздела фаз [1]. Между микробными компонентами биопленок существуют многообразные метаболические взаимоотношения, из которых наиболее часто встречаются комменсализм и протокооперация.

Если в первом случае воздействие имеет односторонний характер, например, потребление кислорода аэробными микроорганизмами обеспечивает возможность сосуществования анаэробных форм [2], то во втором случае происходит взаимное положительное влияние компонентов биопленок друг на друга [3].

В таких случаях могут устанавливаться взаимоотношения, близкие к симбиозу, при которых образование или потребление какого-либо субстрата в биопленке происходит с большей интенсивностью, чем в случае свободных (планктонных) популяций. Это, например, происходит в биопленках, состоящих из целлюлолитиков и их спутников, неспособных к гидролизу целлюлозы. Последние потребляют продукты гидролиза, репрессирующие биосинтез целлюлаз, и, таким образом, повышают образование этих ферментов [4].

Существование близкой ситуации можно предполагать в заводняемых нефтяных месторождениях. Из пластовых вод таких месторождений наряду с нефтеокисляющими микроорганизмами можно выделить множество хемогетеротрофных аэробных и анаэробных микроорганизмов-спутников, которые не способны утилизировать компоненты нефти, но растут за счет

продуктов ее деградации. Однако их взаимоотношения с микроорганизмами-нефтеокислителями практически не изучены.

Мы осуществили реконструкцию ассоциаций нефтеокисляющих микроорганизмов и их спутников из пластовых вод ряда нефтяных месторождений. Поскольку микробные компоненты биопленок способны диссоциировать в пластовые воды, между структурированными и планктонными популяциями устанавливается динамическое равновесие.

Поэтому создание условий, благоприятствующих формированию биопленок (высокая плотность популяции, наличие поверхности раздела фаз), позволяет реконструировать из пластовых вод ассоциации, близкие или эквивалентные существующим в нефтяных пластах [5, 6].

Для реконструкции мы использовали поликарбонатные фильтры, помещенные на поверхность твердой среды М9, содержащей смесь парафинов (от С-11 до С-16). Изолированные из таких биопленок чистые культуры бактерий использовали для формирования бинарных биопленок, включающих в себя микроорганизм-нефтеокислитель и его спутник. Как было установлено, в таких реконструированных биопленках микроорганизмы-спутники часто оказывают положительное влияние на нефтеокисляющие микроорганизмы, что соответствует представлениям об их протокооперативных взаимоотношениях и физиологически вполне оправдано [7, 8].

В реконструированных биопленках бактерии-спутники способствуют более полной утилизации углеводов микроорганизмами-нефтеокислителями. Биопленки либо предварительно формировали на фильтрах и помещали в жидкую среду, либо их формирование осуществляли непосредственно в жидкой среде в присутствии гидрофобного силикагеля (Octadecyl-Si300Polyol, Serva). Результаты этих экспериментов показаны на примере среды М(9) с гексадеканом (табл. 1).

\* Автор для переписки:

© 2007 г. Плакунов В.К.

Институт микробиологии им С.Н. Виноградского РАН,  
Москва

E-mail: plakunov@inmi.host.ru

**Таблица 1**  
**Остаточное количество гексадекана (мг/мл)**  
**после выращивания ассоциации бактерий-**  
**нефтеоокислителей и их спутников**  
**в условиях формирования биопленок**

Микроорганизм, штамм	Готовые биопленки на фильтрах	Биопленки на гидрофобном силикагеле
Контроль (без засева)	2,80	—
Нефтеоокислитель 44а	2,15	—
44а + спутник 44б	1,70	—
44а + спутник 45	0,20	—
Контроль (без засева)	—	2,85
Нефтеоокислитель 14-3	—	1,95
14-3 + спутник 14-1	—	0,45

*Примечание:* знак «—» означает, что такой вариант не использовали

Механизм этого явления состоит в следующем. В ответ на образование микроорганизмами-нефтеоокислителями продуктов деградации углеводов, утилизируемых спутниками, последние выделяют в среду низкомолекулярные вещества, активизирующие рост и окисление углеводов нефтеоокислителями. Нам удалось также показать, что в случае ассоциации, изолированной из нефтяного месторождения с повышенной соленостью пластовых вод, роль галофильного спутника состоит в защите негалофильного нефтеоокислителя от гиперосмотического шока путем выделения в среду осмопротекторных веществ, поглощаемых нефтеоокислителем [6, 9].

Есть основания считать, что подобного рода протокооперативные взаимоотношения между входящими в биопленки микроорганизмами могут возникать и в почвах, загрязненных углеводородами.

Показано, что в содержащих нефтепродукты техногенных почвах солевого рудника также существует ассоциация негалофильного нефтеоокислителя и галофильного спутника, неспособного к окислению углеводов [10].

Полученные нами результаты позволяют предполагать, что в случае биотехнологического использования нефтеоокисляющих микроорганизмов (например, для биоаугментации природных субстратов: воды, почвы и др.) целесообразно применять не только смеси нефтеоокислителей, как в большинстве препаратов, предназначенных для очистки от нефтяных загрязнений [11], но и вводить

в эти препараты микроорганизмы-спутники, повышающие активность нефтеоокислителей и/или защищающие последние от стрессовых факторов среды.

Использование «биопленок-биореакторов» в биотехнологических процессах в последнее время получает все большее распространение, поскольку микроорганизмы, входящие в состав биопленок, характеризуются высокой устойчивостью к биоцидам и антибактериальным препаратам, а также к экстремальным воздействиям среды. Существуют специальные приемы, усиливающие формирование таких микробных ассоциаций в производственных процессах при очистке воды [12], выщелачивании металлов из руд [13], биоремедиации почв, загрязненных нефтепродуктами [14].

Можно ожидать, что использование дополнительных микробных компонентов, активирующих или защищающих основные микроорганизмы, формирующие такие биореакторы, в ряде случаев может существенно повышать эффективность всего биотехнологического процесса.

## Литература

1. Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биопленка — «город микробов» или аналог многоклеточного организма? // Микробиология. — 2007. — Т. 76. — № 2. — С. 149–163.
2. Costerton J.W., Lewandowski Z.L., DeBeer D., Caldwell D., Korber D., James G. Biofilms, the customized microniche // J. Bacteriol. — 1994. — Vol. 1176. — P. 2137–2142.
3. Wolin M.J., Miller T.L. Microbe-microbe interactions // The rumenmicrobial Ecosystem / Ed. Hobson P.N. — N.Y.: Elsevier Science Publ., 1988. — P. 121–132.
4. Weimer P.J. Cellulose degradation by ruminal microorganisms // Crit. Rev. Biotechnol. — 1992. — Vol. 12. — P. 189–223.
5. Журина М.В., Данцевич О.Н., Плакунов В.К. Получение и состав биопленок, образуемых микроорганизмами-нефтеоокислителями и их аэробными хемогетеротрофными спутниками / II Международная молодежная школа-конференция «Актуальные аспекты современной микробиологии». Тезисы докладов. — Москва: МаксПресс. 1–3 ноября 2006 г. — С. 80–81.
6. Плакунов В.К., Журина М.В., Беляев С.С. Устойчивость нефтеоокисляющего микроорганизма, *Dietzia* sp. к гиперосмотическому шоку в реконструированных биопленках (в печати).
7. Журина М.В., Воронина Н.А., Безрукова Е.А., Лебедева И.В., Плакунов В.К. Зависимость способности микроорганизмов к окислению парафинов от состава реконструированных биопленок / Международная научная

- конференция «Микроорганизмы и биосфера». Тезисы докладов. Москва, 19–20 ноября 2007 г. – С. 46.
8. Журина М.В., Стрелкова Е.А., Плакунов В.К., Беляев С.С. Влияние состава реконструированных биопленок на активность парафинокисляющих бактерий (в печати).
  9. Журина М.В., Соболева Г.С., Плакунов В.К. Устойчивость нефтеокисляющих микроорганизмов к осмотическому шоку в реконструированных биопленках / III Международная молодежная школа-конференция «Актуальные аспекты современной микробиологии». Тезисы докладов. Москва, 22–23 ноября 2007. – С. 34.
  10. Ананьина Л.Н., Плотникова Е.Г., Гавриш Е.Ю., Демаков В.А., Евтушенко Л.И. *Salinicola socius* gen. nov., sp. nov., умеренно галофильная бактерия из утилизирующей нафталин микробной ассоциации // Микробиология. – 2007. – Т. 76. – № 3. – С. 369–376.
  11. Беляев С.С., Борзенков И.А., Назина Т.Н., Розанова Е.П., Глузов И.Ф., Ибатуллин Р.Р., Иванов М.В. Использование микроорганизмов в биотехнологии повышения нефтеизвлечения // Микробиология. – 2004. – Т. 73. – № 5. – С. 687–697.
  12. Weber S.D., Ludwig W., Schleifer K.-H., Fried J. Microbial composition of aerobic granular sewage biofilm // Appl. Environ. Microbiol. – 2007. – Vol. 73. – P. 6233–6240.
  13. Rawlings D.E., Johnson D.B. The microbiology of biomining: development and optimization of mineral-oxidizing microbial consortia // Microbiology. – 2007. – Vol. 153. – P. 315–324.
  14. Холоденко В.П., Чукунов В.А., Жиглецова С.К., Родин В.Б., Ермоленко Э.М., Фомченков В.М., Ирхина И.А., Кобелев В.С., Волков В.Я. Разработка биотехнологических методов ликвидации нефтяных загрязнений окружающей среды // Рос. хим. журнал. – 2001. – Т. 45. – С. 135–141.

## ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ ГЕНА ВАКУОЛЯРНОГО $\text{Na}^+/\text{H}^+$ АНТИПОРТЕРА $\text{NHX1}$ СОЛЕРОСА ЕВРОПЕЙСКОГО (*SALICORNIA EUROPAEA*)

Д.И. БОГОМАЗ, Г.К. КУДРЯВЦЕВ, Л.А. ЛУТОВА\*

Санкт-Петербургский государственный университет

Засоление почв характерно для большой части сельскохозяйственных угодий. Связано это с повсеместной мелиорацией, применением удобрений. Засоленные площади практически исключаются из сельхозоборота, так как становятся малоурожайными для обычных сортов растений, либо вообще непригодными для земледелия. Аналогичная проблема характерна и для городских почв, когда с талыми водами весной на газоны попадает соль, рассыпаемая на дорогах в качестве антиобледенителя.

Для эффективного растениеводства в этих условиях необходимо использовать специальные, солеустойчивые сорта растений. Применение методов генетической трансформации для придания устойчивости к абиотическим факторам часто оказывается значительно более продуктивным по сравнению с другими методами. Это связано, прежде всего, с целенаправленной интродукцией высокоэффективного работающего гена, результат функционирования которого можно с большой уверенностью спрогнозировать.

Одним из таких генов является ген вакуолярных  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  антипортеров ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger,  $\text{NHX}$ ), а конкретно —  $\text{NHX1}$  (Apse et al., 1999; Hong-Xia Zhang, Blumwald., 2001). Этот ген присутствует у всех растений и является важным звеном в обеспечении катионного баланса клетки. Белок  $\text{NHX}$ , кодируемый данным геном, обменивает один вакуолярный протон на ион натрия из цитоплазмы, благодаря чему концентрация натрия в цитоплазме понижается без уменьшения общей осмотической силы клетки, что соответствует

основному механизму солеустойчивости галофитов. В связи с тем, что длины мРНК с гена  $\text{NHX1}$  солероса европейского (*Salicornia europaea*) и *Arabidopsis thaliana* вполне сопоставимы, представляют интерес значительное отличие в длине самих генов  $\text{NHX1}$  из этих растений и возможный вклад протяженных интронов в повышенную экспрессию гена  $\text{NHX1}$  из солероса.

В связи с большой протяженностью гена  $\text{NHX1}$  *Salicornia europaea* его полноразмерная амплификация оказалась неэффективной, даже при использовании методов long PCR. Для выяснения его длины и нуклеотидной последовательности мы применили последовательную амплификацию и последующее секвенирование небольших фрагментов гена. Праймеры для проведения ПЦР сконструированы на основе последовательности кДНК из базы данных. Нами отсекужены фланкирующие участки гена  $\text{NHX1}$  *Salicornia europaea*. В качестве контроля для последующих исследований мы изолировали полноразмерный ген  $\text{NHX1}$  из *Arabidopsis thaliana*.

Получение высокоэффективных генно-инженерной конструкции с геном  $\text{NHX1}$  позволило бы в перспективе решить проблему солеустойчивости на широком круге сортов культурных растений.

*Работа осуществлена при поддержке программы BRHE фонда CRDF и Министерства образования и науки РФ, грант ST 0120.*

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

\* Автор для переписки:

© 2007 г. Лутова Л.А.

Кафедра генетики и селекции

Санкт-Петербургского государственного университета

199034 Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

Тел./факс: (812) 328-15-90

## ОПТИМИЗАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ТОПОЛЯ *POPULUS ssp*

Н.В. БУЛЫЧЕВА\*, А.М. КАМИОНСКАЯ

Центр «Биоинженерия» РАН, Москва

Леса играют важную роль, как в поддержании экологического равновесия планеты, так и в мировой экономике. Поэтому в настоящее время лесоводство является одним из наиболее приоритетных направлений биотехнологии.

Основные перспективы в деле улучшения лесных древесных пород сегодня связывают с генетической инженерией растений. Особенно привлекательной культурой среди лесных древесных пород является тополь (*Populus L.*, *Salicaceae*, *Salicales*). Данная древесная порода имеет ряд преимуществ как модельный объект исследований: тополь отличается высокой скоростью роста и достаточной пластичностью растительной ткани, что существенно для успешной трансформации; кроме того, полностью секвенирован геном тополя.

Общепринятый подход к разработке метода получения трансгенных растений состоит из определения способа внедрения Т-ДНК в растительную клетку и разработки условий эффективной и воспроизводимой регенерации побегов из трансформированных клеток. На сегодняшний день наиболее широко используемым способом введения гетерологичных генов в геном древесных растений является агробактериальная трансформация.

Целью настоящей работы являлась оптимизация таких параметров регенерации и трансформации, которые позволили бы достичь максимального выхода фенотипически нормальных трансформантов тополя *Populus ssp*.

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи:

- идентифицирован оптимальный тип эксплантов;

- подобран гормональный состав питательных сред для каллусообразования, регенерации и укоренения регенерантов;
- определен оптимальный тип ко-культивации с агробактерией;
- по модифицированной методике проведена серия экспериментов по агробактериальной трансформации.

В качестве растительного материала использовали молодые проростки тополя. В первой серии экспериментов по трансформации использовали штамм *A. tumefaciens* AGL1, содержащий бинарный вектор pBag с кассетой экспрессии гена *bar* под контролем 35S промотора и tNOS терминатора. Экспрессия гена *bar* обуславливает устойчивость трансгенных растений к гербицидам на основе L-фосфинотрицина. В результате проведенной серии экспериментов по трансформации с использованием оптимизированной методики получено 119 растений-регенерантов. На основании проведенного молекулярного анализа методом ПЦР отобрано 10 регенерантов, содержащих в геноме переносимую генетическую конструкцию.

Во второй серии опытов использовали штамм *A. tumefaciens* AGL0, несущий вектор Vec 035 с репортерным геном GUS. В результате экспериментов по трансформации получено 95 регенерантов, из которых по результатам гистохимического анализа отобрано 7 трансгенных растений, содержащих ген GUS.

Все трансформанты были адаптированы к условиям *in vivo* с использованием гидропонной установки «Минивит-2» и высажены в вегетационные контейнеры в защищенном грунте.

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

\* Автор для переписки:

© 2007 г. Булычева Н.В.

Центр «Биоинженерия» РАН

117312 Москва, Проспект 60-летия Октября, 7,

корпус 1



## РОЛЬ ХИТООЛИГОСАХАРИДОВ В ФОРМИРОВАНИИ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТАТУСА РАСТИТЕЛЬНОЙ КЛЕТКИ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ *TILLETIA CARIES*

З.Р. ЮСУПОВА\*, И.В. МАКСИМОВ, О.Б. СУРИНА

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН,  
Уфа, Башкортостан

Известно, что образование  $O_2^-$  определяется главным образом интенсивностью роста (Еникеев, Гамбург, 1995) и находится под контролем эндо- и экзогенных факторов. С этой точки зрения особый интерес представляют данные, характеризующие окислительный статус растительной клетки, которые обеспечивают ей устойчивость при заражении фитопатогенами.

Поэтому целью нашей работы было изучить взаимосвязь роста с продукцией  $O_2^-$  и пероксида водорода в клетках каллуса пшеницы с различной устойчивостью к возбудителю *T. caries* и роль хитоолигосахаридов в этом.

В качестве эксплантов для получения каллусной ткани использовали незрелые зародыши пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Жница и *T. timopheevii* Zhuk. (каталог ВИР К-58666), культивируемые на питательной среде Мурасиге и Скуга (МС). Вид *T. timopheevii* является иммунным, вид *T. aestivum* — восприимчивым к твердой головне. Нарастание биомассы определяли весовым методом, образование  $O_2^-$  — по восстановлению ТТХ (2,3,5-трифенилтетразолий хлорид) (Schopfer P. et al., 2002), пероксида водорода — с использованием ксиленолового оранжевого (Bindschedler L.V. et al., 2001).

Каллусы восприимчивой пшеницы реагировали на заражение *T. caries* стойким повышением продукции  $O_2^-$  и снижением уровня пероксида водорода, то есть его окислительно-восстановительный статус формировался за счет супероксид радикала. Все это происходило на фоне ингибирования роста каллуса.

Только к концу культивирования (на 30-е сутки) мы наблюдали усиление роста зараженного каллуса этого сорта относительно контроля. У устойчивой пшеницы патоген вызывал снижение и  $O_2^-$  и пероксида водорода в течение трех суток после заражения. Это происходило на фоне стимуляции роста каллуса и усиленного образования у него ризоидов. Однако в последующие сроки в каллусе устойчивой пшеницы продукция как  $O_2^-$ , так и пероксида водорода повышалась на фоне продолжающегося активного роста со смешанной культурой по сравнению с контролем.

Таким образом, в тканях каллуса инфицированной пшеницы включаются механизмы, в том числе и ингибирующие рост, направленные на защиту его тканей от гиперпродукции АФК. Ранее показано, что эта реакция усиленно протекает в местах проникновения патогена (Максимов и др., 2004).

Присутствие ХОС в среде культивирования каллуса повышало продукцию эндогенного  $O_2^-$  и усиливало рост каллуса только в начальный период его развития, особенно четко проявляющийся у устойчивого сорта и со степенью ацетилования 30%.

Представляет интерес, что в этих каллусах содержание пероксида водорода снижалось. В последующем ХОС приводили к снижению темпов роста каллуса и формированию в них морфогенных структур, в том числе и ризоидов. К моменту нанесения спор (на 3-и сутки культивирования) каллусы, растущие на среде в присутствии ХОС, особенно у устойчивой пшеницы, были более дифференцированы, то есть имели большее количество ризоидов, с пониженной скоростью роста, а у устойчивой пшеницы к тому же и с пониженной продукцией  $O_2^-$  по сравнению с контролем.

Такое поведение каллусной культуры пшеницы под действием ХОС, вероятно, обусловлено тем, что

\* Автор для переписки:

© 2007 г. Юсупова З.Р.

Институт биохимии и генетики  
Уфимского научного центра РАН,  
Уфа, Башкортостан

элиситоры запускают механизмы, защищающие каллусную ткань от гиперпродукции как  $O_2^-$ , так и пероксида водорода.

Особенно интересны данные, полученные на совместных культурах каллусов с патогеном, росших в присутствии ХОС. В этом случае в ответ на заражение происходило значительное снижение в них продукции АФК и темпов роста, наиболее четко проявляющееся при 30% степени ацетилирования ХОС.

Следует отметить, что при этом у восприимчивого сорта появлялось свойство повышать продукцию пероксида водорода в ответ на инфицирование *T. caries*, подобное таковой у каллусов устойчивой пшеницы,

Таким образом, ХОС приводили к развитию в тканях каллуса пшеницы реакций, подобных возникающим при заражении фитопатогеном.

*Работа выполнялась при финансовой поддержке РФФИ №05-04-48310 и индивидуального гранта Президента Российской Федерации МД-1651.2005.4.*

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

## КОМПЛЕКСНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОМАССЫ ГРИБА *MUCOR CIRCINELLOIDES* TIEGH. VAR. *LUSITANICUS* ИНМИ – ПРОДУЦЕНТА $\gamma$ -ЛИНОЛЕНОВОЙ КИСЛОТЫ

Н.С. ФУНТИКОВА\*, И.С. МЫСЯКИНА

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН,  
Москва

Штамм гриба *Mucor circinelloides* Tiegh. var. *lusitanicus* ИНМИ (*Mucor lusitanicus* ИНМИ), полученный в Институте микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, способен синтезировать липиды, содержащие  $\gamma$ -линоленовую кислоту в высокой концентрации и каротиноиды.

Эссенциальная  $\gamma$ -линоленовая кислота является предшественником в синтезе простагландинов и лейкотриенов, которые осуществляют регуляцию разнообразных клеточных функций и участвуют практически во всех патологических процессах в организме.

Показано, что  $\gamma$ -линоленовая кислота эффективна при лечении аллергических дерматитов у детей, обладает высокой репаративной активностью при заживлении ран и ожогов.

Дополнительное использование ее в питании снижает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, артритов, диабета, раковых заболеваний, в частности, опубликованы результаты о подавлении развития рака поджелудочной железы.

Содержание  $\gamma$ -линоленовой кислоты в липидах зависит от условий выращивания гриба: от вида источника углерода и азота, от режима углеродного и азотного питания. При использовании в качестве источников питания глюкозы и мочевины в режиме подпитки уровень  $\gamma$ -линоленовой кислоты в липидах достигал 45% от суммы жирных кислот.

Изучение распределения кислоты среди разных классов липидов показало, что самая высокая ее концентрация (более 30%) содержалась в жирных кислотах

фосфолипидов — фосфатидилхолина (ФХ) и фосфатидилэтаноламина (ФЭА), и во фракции свободных жирных кислот (СЖК) (более 40%). Относительное содержание фосфолипидов в общей липидной фракции при этом составляло 15%. В триацилглицеринах (ТАГ) уровень  $\gamma$ -линоленовой кислоты составлял 22% в сумме жирных кислот.

Содержание ТАГ — основной фракции липидов — изменялся от 25 до 50% в зависимости от условий выращивания культуры: соотношения С/Н, концентрации источника углерода. Использование последовательной экстракции липидов этанолом и гексаном позволяет получить фракции липидов с преимущественным содержанием фосфолипидов или ТАГ.

В результате рафинирования была получена фракция липидов, содержащая 90% ТАГ, так называемое « $\gamma$ -Линоленовое масло». Гриб *Mucor circinelloides* Tiegh. var. *lusitanicus* ИНМИ выращивали на средах с добавлением отходов пищевых предприятий в качестве источников питания: меласса, кукурузный экстракт, белкозин, жиросодержащие отходы. Показатели роста и липогенеза гриба в значительной степени варьировали на средах разного состава.

При выращивании культуры гриба на жиросодержащих отходах, полученных после рафинации подсолнечного масла, концентрация липидов в клетках гриба достигала 60% от веса сухой биомассы, содержание  $\gamma$ -линоленовой кислоты в липидах — 14%.

При использовании высокой концентрации глюкозы в питательной среде гриб переходил к дрожжеподобному росту, что позволило провести его выращивание в условиях непрерывного культивирования.

В биомассе, полученной в условиях непрерывного культивирования при концентрации глюкозы в питательной среде 150 г/л, содержалось 35% липидов и 15%  $\gamma$ -линоленовой кислоты в сумме жирных кислот.

\* Автор для переписки:

© 2007 г. Фунтикова Н.С.

Институт микробиологии  
им. С.Н. Виноградского РАН,  
Москва



Липиды гриба представляют собой маслянистую жидкость оранжевого цвета, который обусловлен присутствием каротиноидов. Содержание каротиноидов в биомассе зависело от условий выращивания культуры и достигало 650 мг%.

Шрот, остающийся после экстракции липидов, содержал 40% белка и около 2% остаточных липидов. Исследование аминокислотного состава белка биомассы показало, что в нем представлен практически полный набор аминокислот, в том числе незаменимых.

Изучение усвояемости шрота норками в условиях их содержания на звероферме показало, что при добавлении его к рациону в количестве 20% сухого вещества, содержащийся в нем белок усваивался почти на 90%, жир переваривался полностью.

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

## ПРИОРИТЕТНЫЕ ПРОЕКТЫ НАПРАВЛЕНИЯ «МОРСКАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ»

О.Я. МЕЗЕНОВА\*

ФГОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет»,  
Калининград

Морской биотехнологией принято называть изучение и применение продуктов и процессов, имеющих место в живых системах и организмах водной среды, в человеческой деятельности. Данное направление представляет собой огромный потенциал знаний, реализация которого до сих пор ограничена.

Жизнь зародилась в воде и, пройдя многие формы, сохранилась и трансформировалась в новые земные организмы, прежде всего, через уникальные биологически активные вещества (БАВ) и композиции, содержащиеся в морских системах.

В цивилизованном мире морская биотехнология успешно развивается как самостоятельная индустрия. Ведущими странами здесь являются Япония, Австралия, США, Китай, Скандинавские страны. Набирают темп в развитии данного направления Латиноамериканские страны (Аргентина, Чили), Индия, Новая Зеландия и некоторые другие.

Россия, окруженная 15 морями и 3 океанами, в XX веке являлась ведущей морской державой, имела развитую морскую индустрию — самодостаточный флот, сеть рыбоперерабатывающих предприятий, НИИ, отраслевые учебные учреждения, Министерство рыбного хозяйства. Именно за эти годы был собран уникальный потенциал знаний в области рыбного хозяйства, востребованный сегодня в научно-прикладном аспекте морской биотехнологии. Интерес к нему огромен как в нашей стране, так и за рубежом.

К сожалению, отечественная рыбная промышленность сейчас находится в глубоком кризисе, переживает затяжную депрессию.

В июле 2006 г. на научно-практической конференции «Пищевая и морская биотехнология», прошедшей в Калининграде-Светлогорске, участники приняли решение о разработке направления «Морская биотехнология» как составляющей национальной программы развития биотехнологии в РФ, принятой на III съезде Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова в октябре 2005 г. Были намечены рамки данного направления и участники. С этого периода началась подготовка и проработка предложений по содержанию направления, отбор конкретных проектов, которые поступали из регионов.

В августе 2007 г. часть проектов этого направления была уже апробирована на 4-м Международном симпозиуме «ЕС-Россия: сотрудничество в области биотехнологии, сельского хозяйства и продуктов питания» (г. Суздаль).

Направление «Морской биотехнология» должно охватывать многоуровневые знания в области биологии, технологии, аква- и марикультуры, экологии и безопасности, подготовки кадров, международной деятельности, направленные на решение продовольственных, медицинских, сельскохозяйственных, технических, экологических, образовательных и других проблем, связанных со здоровьем функционированием рыбной отрасли.

**Цель направления:** развитие научно-практического потенциала рыбохозяйственного комплекса России для решения актуальных медико-социальных проблем населения.

**Задачи:** разработка ключевых мероприятий программы, изыскание резервов для их осуществления, создание новых производств и продукции, развитие международных контактов.

**Основные участники:** 6 региональных отделений Общества биотехнологов России, в которых традиционно

\* Автор для переписки:

© 2007 г. Мезенова Ольга Яковлевна,  
доктор технических наук, профессор,  
заведующий кафедрой пищевой биотехнологии  
Калининградского государственного технического университета,  
236000 Калининград, ул. Профессора Баранова, 43,  
Учебный корпус № 1  
Тел.: (0112) 46 35 69  
E-mail: mezenova@klgtu.ru

развита рыбная промышленность (Москва и Московская область, Санкт-Петербург, Приморский край, Калининградская, Мурманская, Астраханская области). В этих регионах в реализации конкретных мероприятий задействовано около 30 учреждений и организаций, включая ФГУП «Гипрорыбфлот», ФГУП «ВНИРО», ФГУП «ТИНРО-центр», ФГОУ ВПО «КГТУ», ФГОУ ВПО «МГТУ», ФГОУ ВПО «АГТУ», ФГОУ ВПО «Дальрыбвтуз», ФГОУ ВПО «ТГЭУ», ВНИИТИ БП, ФГПИУ «СевПИНРО», Опытный водорослевый комбинат г. Архангельска, БПИ ДВО РАН, ПГСХА, ФГОУ ВПО «СПГВУ», КаспНИРХ, АЦ РП «Каспрыбтехцентр, ООО НВП «Каспбиотехцентр» и др. Единичные проекты предложены совместно с учреждениями из Германии и Китая.

К настоящему времени отобраны следующие приоритетные проекты направления:

1. Создание биотехнологических производств по комплексной переработке гидробионтов:
  - специализированного судна для добычи и переработки водных биологических ресурсов (крыля, мезопелагических рыб и др.) методом глубокого фракционирования с получением белковых гидролизатов, липидов, минеральных веществ, для пищевых, кормовых и технических целей;
  - биотехнологического завода по производству продуктов здорового питания из растительного, животного и морского сырья;
  - разработка технологии комплексной переработки антарктического крыля.
2. Разработка биотехнологий продуктов функционального питания, биологически активных веществ, добавок (БАД) и композиций на основе водных биологических ресурсов.
3. Биоэнергетика – разработка технологий энергетических средств и материалов на основе биопотенциала недоиспользуемого морского сырья.
4. Аква- и марикультура: разработка биотехники культивирования ценных видов рыб (сиговых), нерыбных объектов промысла (ракообразных) и водорослей.
5. Жизненно важные лекарственные препараты на основе биотехнологических субстанций.
6. Биодegradуемые полимеры из морского сырья: хитозан, сульфатированные полисахариды, коллаген и др.
7. Биологическая безопасность в обращении морепродуктов.
8. Подготовка кадров по специализированным программам бакалавров, магистров, докторов наук,

повышение квалификации в области морской биотехнологии.

9. Международное развитие морской биотехнологии по проектам «Биорыба», «Биоморепродукты», «Биоводоросли»; совместная подготовка кадров по многоуровневой системе Болонского процесса; создание международного научно-учебно-производственного комплекса.

Осуществление основных мероприятий проекта по созданию биотехнологических производств, направленных на комплексную переработку гидробионтов, позволит разработать теоретические и практические основы безотходных технологий пищевых, кормовых, медицинских и технических продуктов из водного сырья, создать уникальный замкнутый цикл по получению биологически активных изделий из отходов производства непосредственно в местах вылова (проект судна). При этом методы решения проблемы базируются на глубоком фракционировании исходного материала. В данном случае возможна минимизация производственных потерь при максимальном коэффициенте полезного использования биопотенциала сырья и высокой биологической ценности готовой продукции.

Особый интерес представляет проект «Функциональное питание, создание БАВ, БАД и других биологически активных композиций», который дает возможность использовать гидробионты как основу здорового питания, создать серию функциональных пищевых продуктов и БАД из тканей рыб, моллюсков, ракообразных, иглокожих, водорослей, а также отдельных компонентов (аминокислот, пептидов, жиров и др.) путем комбинирования с пищевыми ингредиентами, применяемыми в хлебопекарных, молочных, жировых, рыбных и мясных производствах. Здесь же предусмотрено изготовление субстанций, конечных форм, косметических и технических продуктов. Известна также значимость ферментов из морского сырья, зарекомендовавших себя в качестве созревателей, ускорителей технологических процессов, пищевых добавок, биохимреактивов, незаменимых в химической промышленности, сельском хозяйстве, медицине, диагностике и др. Это – специфические холинэстеразы, протеиназы, коллагеназы, нуклеазы и др. Целесообразно также использовать морское сырье для производства препаратов, обогащенных свободными аминокислотами (до 70% от массы препарата), минеральными веществами, биополимерами.

Одним из основных разделов проекта по функциональному питанию является разработка оптимального питания на основе водных биологических ресурсов в

зависимости от возраста, состояния здоровья и профессиональной занятости населения. В настоящее время отсутствует научное обоснование оптимальных рационов для школьного, геродиетического, лечебно-профилактического и иных видов питания. Необходимо разработать методические рекомендации по организации отечественного промышленного производства пищевой продукции из гидробионтов.

Включение проекта «Биоэнергетика» базируется на его особой актуальности и востребованности. Морские ресурсы, особенно недоиспользуемые в пищевом производстве, чрезвычайно богаты биоэнергетическим потенциалом (полисахаридами, липидами) и являются прекрасным сырьем для получения биоэтанола и биодизеля. В данном случае отпадает необходимость специального выращивания энергетического сырья (зерновых, масличных культур), становится возможным существенно редуцировать себестоимость производства энергоносителей. Разработка научно-практических основ, специализированных технологий и соответствующей нормативной документации на данные виды биоэнергии позволит получать ценные биоэтанол и биодизель из водорослей, рыб, нерыбных объектов, а также отходов от разделки сырья, идущего на пищевые цели.

Проект по мари- и аквакультуре даст возможность создать учебно-производственные комплексы опытных биохозяйств на побережье Балтийского и Баренцева морей, внутренних водоемах, промышленных хозяйствах страны, предназначенных для многих целей — подготовки высококвалифицированных специалистов в области аквакультуры, разработки биотехники культивирования гидробионтов и водорослей в искусственных условиях, получения ценной продукции, усовершенствования существующих биотехнологий кормопроизводства и разведения ценных рыб и морепродуктов (сиг, ракообразные). Особо следует отметить актуальность выращивания и комплексной переработки морских водорослей (макро- и микрофитов) Северного бассейна совместно с уникальными видами флоры данного региона.

Проект «Жизненно важные лекарственные препараты» направлен на использование морского сырья (гонад, икры, молоко) для получения ценных натуральных препаратов (гормонов, цитокинов и пептидов) с отличительными от человеческих характеристиками; при этом они более безопасны для человека. Это будет возможно на основе скрининга по органам в различных таксономических группах гидробионтов (иглокожие, моллюски, ракообразные, рыбы) путем исследования основных физико-химических и биологических свойств

морских объектов. Использование достижений в изучении цитокинов, цитомединов и пептидов из сырья морского происхождения для производства высокоэффективных лекарственных средств будет возможно через разработку нормативной документация и проведение медико-биологических исследований пептидных препаратов класса цитомединов из различных органов и тканей гидробионтов, обладающих иммуностимулирующими, ростостимулирующими, апоптозрегулирующими, антиоксидантными и другими свойствами. Актуальна также разработка пакета документов для фармстатьи на пептидный препарат (аналог цитомединов), получаемый из нервной ткани кальмаров («Тинростим»). Производство новых лекарственных препаратов на основе биотехнологических субстанций в ТИНРО-центре, организованное совместно с Сибирским центром фармакологии и биотехнологии на основе ДНК, пептидов, липидов морского происхождения, целесообразно осуществлять через создание проектов нормативных документов и технических регламентов. Результаты данного проекта позволят использовать успешный опыт лечения социально значимых заболеваний (туберкулеза, гриппа и ряда других инфекционных заболеваний) с помощью БАВ и фармпрепаратов из морского сырья.

Водные биологические ресурсы богаты уникальными биополимерами (хитин/хитозан, агар, агароза, каррагинаны, фукоидан, альгинаты, коллаген и др.). Предполагается исследование специфики получения и применения данных веществ через расшифровку механизмов действия данных полисахаридов с последующей разработкой ряда продуктов и БАД, предназначенных для практической медицины. Это позволит повысить сопротивляемость организма людей к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды, стабилизировать иммунную систему, предупредить ряд заболеваний.

В этой связи предполагается создание промышленного регламента на производство биополимерной продукции, методических рекомендаций по использованию их в лечебно-профилактическом питании и восстановительном лечении. Целесообразна организация отечественного производства гелей из водорослей, косметических и лечебно-профилактических продуктов на их основе. Особый интерес представляют бурые водоросли Белого моря, имеющие особые сульфатированные полисахариды. Скрининг химического состава и биологически активных веществ водорослей даст возможность организовать производство БАД-биополимеров натурального происхождения, внедрить их в практику лечебно-профилактического питания.

Предусматривается также разработка высокоэффективной технологии получения агара и агарозы через создание промышленного регламента на производство гидроколлоидов, предназначенных для пищевой и микробиологической отраслей.

В данном проекте необходимо выделить раздел «Хитин/хитозан», предусматривающий разработку технологий получения лекарственных средств для животных, человека и растений на основе данных уникальных аминополисахаридов (диагностических, профилактических, лечебных препаратов, БАД к пище, напитков, сорбентов токсинов, средств защиты растений, включая трансгенные, сочетающих свойства индукторов болезнестойчивости и стимуляторов роста, и др.) через создание инкапсулированных форм вакцин, клеток-продуцентов БАВ и антител, препаратов для пострадиационной реабилитации и детоксикации человека и объектов окружающей среды. Биоконверсия хитина/хитозана позволит разработать технологии получения БАВ и комбинированных продуктов на основе химической, физической и ферментативной модификации природных биополимеров гидробионтов — белковых гидролизатов, экстрактов, низкомолекулярного хитозана и других полисахаридов.

Реализация проекта по биологической безопасности обеспечит разработку основ микробиологического риска на всем цикле получения и переработки морепродуктов, создание технических регламентов получения готовой продукции с учетом таких рисков и с использованием новейших экспресс-методов анализа микробиологических параметров во всех критических точках производства. Одним из результатов данной работы явится подготовка методических рекомендаций по определению микробиологического риска на отдельных стадиях производства рыбной продукции, анализу санитарно-эпидемиологических групп микроорганизмов с помощью экспресс-методов.

Проект «Подготовка кадров по специализированным программам бакалавров, магистров, докторов наук» базируется на предложениях ФГОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет», актуальных в связи с переходом в ближайшие годы высшего образования страны на унифицированную многоуровневую подготовку кадров, предписанную Боннской конвенцией, которую подписала и Россия. В этой связи проблема подготовки специалистов перечисленной

квалификации по морской биотехнологии приобретает международное значение. С учетом опыта КГТУ в подготовке магистров техники и технологии в области морской биотехнологии, а также предложений других отраслевых высших учебных заведений представляется перспективной реализация намеченных мероприятий в рамках этого проекта.

Расширение международного сотрудничества в области морской биотехнологии перспективно также путем разработки специальных проектов «Биорыба», «Биоморепродукты», «Биоводоросли». Здесь намечается подготовка исходных требований к нормативной документации на комплексную переработку данного биологически ценного сырья с целью производства продукции со знаком «Био», ассоциирующейся сегодня, прежде всего, с гарантированно экологически безопасными продуктами, изготавливаемыми из перечисленных объектов. Для этого необходимо провести мониторинг всех повреждающих факторов технологической цепочки, определить области экологической безопасности (от района вылова или технологии выращивания — до схемы производства, упаковки и хранения готовых изделий). Исключается применение искусственных пищевых добавок, консервантов, пропеллентов и других веществ неприродного происхождения, оговариваются исходные требования к водоемам, транспорту, оборудованию и другим методам и материалам, задействованным в производстве. Сказанное применимо также и к продукции технического назначения (биоэтанол, биодизель).

В аспекте международной деятельности актуально также создание международных научно-учебно-производственных комплексов, которые могли бы стать базами для совместных проектов. Сегодня их основание могло бы быть приурочено к имеющимся площадкам — русско-японским центрам в ФГОУ ВПО «Дальрыбвтуз» и «ТГЭУ», а также международной лаборатории биологической безопасности, создаваемой в ФГОУ ВПО «КГТУ».

Рассмотренные выше мероприятия, предусмотренные направлением «Морская биотехнология», являются актуальными, назревшими, своевременными. Их реализация позволит не только дать значительный эффект для экономики России, но существенно реанимировать рыбную промышленность, а также поднять ее международный престиж.



## КОМПЛЕКСНАЯ ПЕРЕРАБОТКА СЕМЯН РАСТЕНИЙ РОДА AMARANTHUS L.

Е.Н. ОФИЦЕРОВ\*

*Российский государственный химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева,  
Москва*

### Введение

Наблюдающееся в настоящее время ухудшение экологической обстановки, проявляющееся в накоплении в продуктах питания из-за химизации сельского хозяйства глобального загрязнения поверхностных вод и локальных радиоактивных контаминаций разнообразными токсичными и мутагенными веществами, неизбежно приводит к увеличению уровня различных приобретенных, а также к активизации проявлений наследственных заболеваний, в частности, желудочно-кишечного тракта.

Вследствие этого отмечается увеличение количества людей, страдающих пищевой аллергией, — заболеванием, характеризующимся повышенной иммунной реакцией на пищевые вещества-аллергены. Особое место среди больных занимают люди, страдающие аллергией к коровьему молоку. При данной аллергии наблюдается постоянный недостаток белка, что приводит к расстройству различных функций организма. Для полноценного питания этой группы людей необходимы создание и расширение ассортимента продуктов, соответствующих по своим свойствам коровьему молоку. Восполнение потребностей данной группы населения в незаменимых факторах питания и создание продуктов с функциональными свойствами являются не только важнейшей задачей по улучшению качества здоровья, но и представляются чрезвычайно перспективным направлением для экономики в целом. Перспективность связана, в первую очередь, с тем, что рынок заменителей молока в РФ в настоящее время заполнен только на 10–15% и в будущем ожидается его развитие.

Из анализа существующего положения следует, что основным заменителем коровьего молока является соевое молоко — продукт, производимый из соевых бобов. Белки сои практически не уступают по биологической и пищевой ценности белкам животного происхождения, содержат комплекс биологически активных компонентов при отсутствии холестерина и молочного сахара, являющегося сильным аллергеном. Но вместе с увеличением потребностей в продуктах переработки сои неизбежно растет и использование в производстве генномодифицированного сырья, так как основные посевные площади США и других стран-производителей ГМО заняты генномодифицированными сортами сои и кукурузы. Поэтому научные изыскания, направленные на поиск новых высокоэффективных источников сырья, с точки зрения создания растительных аналогов молока, являются актуальными.

В последние годы на мировом рынке появился новый источник сырья для пищевой промышленности — семена амаранта, обладающие ценным химическим составом, высокой пищевой и биологической ценностью, содержащие широкий спектр биологически активных веществ, а по составу незаменимых аминокислот превосходящие сою.

Однако использование семян амаранта только для производства молока изначально окажется менее рентабельным на фоне молока из сои, так как для сои разработана и реализована схема комплексной переработки с получением широкой гаммы продуктов разнообразной направленности действия.

Поэтому разработка и создание комплексной переработки семян амаранта, отличающихся набором уникальных физиологически активных веществ, в первую очередь белка и высоконепредельного соединения — сквалена, являются чрезвычайно актуальным направлением, в основе которого должна лежать биотехнология целевых продуктов.

\* Автор для переписки:

© 2007 г. Офицеров Евгений Николаевич

д.х.н., профессор

Российский государственный

химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева

Москва, Миусская пл., 9

В настоящей статье обзорного характера предпринят анализ общей схемы комплексной переработки семян амаранта на основе рассмотрения отдельных ее частей, прежде всего, белковой и жировой составляющей.

Проблема амаранта вписывается в более масштабную задачу поиска новых источников питания, в том числе за счет растениеводства и овощеводства. Интродукция новых нетрадиционных культур позволит расширить их ассортимент и сделать питание населения более полноценным и разнообразным за счет освоения перспективных видов этих культур. Специалистами чаще всего рекомендуется внедрение таких распространенных овощных культур, как хризантема овощная, топинамбур, амарант, стевия, стахис и др.

Известно также, что свойства амаранта высоко оценил Н.И. Вавилов, который рекомендовал его еще в 1930 г., после поездки в Мексику, к активному внедрению в сельскохозяйственные программы СССР (культивированию на силос). Однако после его смерти работы в этом направлении были свернуты.

#### Общие сведения об амаранте и получаемых из него пищевых продуктах

Амарант — травянистое однолетнее растение с крупными листьями, высотой достигающее 3–4 метров и диаметром стебля до 10 см. В метелках его соцветий образуется до 500000 семян. Семена очень мягкие, расцветка от белых, кремовых, розовых до красных и черных, диаметром до 1–1,5 мм (рис. 1).



Рис. 1. Культура амаранта

Амарант произрастает в аридных районах с теплым климатом, что вполне соответствует климатическим условиям Юга России. Родиной его является Центральная Америка, и продукты из него в течение многих веков и тысячелетий входили в рацион питания ацтеков и инков. В таблице 1 приведены некоторые традиционные продукты из семян амаранта.

Таблица 1  
Некоторые традиционные продукты из амаранта

Наименование продукта	Страна или область	Характеристика продукта
Atole	Мексика	Напиток или жидкая каша
Alegria		Смесь воздушных семян с патокой или сиропом
Bollos	Перу	Смесь воздушных, измельченных семян и сиропа
Laddos	Индия	Смесь
Chapatti	Гималаи	Напоминают пирожное, изготовлены из муки амаранта

Урожайность семян амаранта — 2–3 тонны на гектар, а зеленой массы амаранта — 4–4,5 тонны на гектар в течение четырех недель. В Европу амарант был завезен в XVI веке. По-гречески «амарантос» означает «неувядающий». После более чем четырехсотлетнего забвения человечество вспомнило об этой культуре, обладающей уникальным химическим составом, что делает амарант культурой универсального использования.

Особое внимание ученых амарант привлек после того, как выяснилось, что он принадлежит к растениям, обладающим особым типом фотосинтеза, что объясняет колоссальные потенции продуктивности и роста. Это растение одновременно является пищевым, овощным, кормовым и декоративным.

Научные центры России активно ведут работы в области изучения и внедрения амаранта в промышленность. И на сегодняшний день особенно актуальным является практическое применение полученных результатов в:

- хлебопекарной, кондитерской промышленности,
- в производстве продуктов диетического, лечебно-профилактического назначения,

- в производстве продуктов детского питания [1],
- в химико-фармацевтической,
- в парфюмерно-косметической,
- в масложировой,
- в комбикормовой промышленности.

Такой обширный спектр применения амаранта объясняется наличием во всех частях растения огромного количества биологически активных веществ: аминокислот, микроэлементов, витаминов, протеинов и др. И, конечно, самая высокая концентрация этих веществ наблюдается в семенах, из которых по новым конверсионным технологиям извлекается амарантовое масло.

### Химический состав амаранта, биологическая активность соединений

В Индии, Китае, странах Латинской Америки амарант широко используется в народной медицине. Упоминания об амаранте как о средстве для очищения кишок можно найти у армянского врача XVI века Амасияци.

Отвар из верхушек растения *Amaranthus cruentus* русский врач Дубянский (1918) рекомендовал в качестве эффективного средства от кашля. Позднее отвары листьев *A. retroflexus* и *A. lividis* были рекомендованы от головной боли и опухолей, а корни — от желтухи.

Рядом авторов сообщалось об антибактериальной активности экстрактов нескольких видов амаранта. Водный настой листьев *A. retroflexus* рекомендован при кишечных коликах, запорах и в качестве кровоостанавливающего средства.

Семена *A. lividis* используются в Мексике как эффективные средства при опухолях, бородавках. В Индии вид *A. viridis* применяют при укусах змей. Есть рекомендации об использовании листьев *A. spinosus* в качестве диуретического средства. В Пакистане амарант назначают при лечении импотенции. Установлено также мочегонное действие экстрактов амаранта.

Итоги первого этапа использования амаранта в медицине были подведены на Первом Международном конгрессе по амаранту (Мексика, 1990).

В последние годы была проделана большая исследовательская работа по использованию масла из семян амаранта при лечении ожогов, где оно по своей эффективности превосходит облепиховое масло, а также для профилактики ишемической болезни.

Что касается других лекарственных свойств амаранта, то они находятся в стадии изучения, хотя на рынке России и западных стран присутствуют препараты на основе амаранта. Так, на основе полученных данных

по содержанию в листьях амаранта кальция, пектинов, исследований по действию различных кислот, в том числе на модели желудочного сока, была создана биологически активная добавка к пище — «Кальций-актив» [10].

### Белки семян амаранта

Для аналогов молока одними из определяющих компонентов являются белки и углеводы. Суммарный белок амаранта в зависимости от его вида и сорта содержит до 40% незаменимых аминокислот, что ставит его в ряд наиболее перспективных зерновых культур. Питательная ценность белка амаранта очень высока — показатель его использования равен 1,5–2,0. Как известно, полезной для живого организма является только перевариваемая часть составляющих пищу веществ. Поэтому для определения уровня обеспеченности рациона расчет ведут по перевариваемому белку. Коэффициент перевариваемости белка амаранта составляет свыше 70%. Белок амаранта при биологической значимости 75 (кукурузы — 44, пшеницы — 60, сои — 72, коровьего молока — 72) наиболее близок к идеальному балансу незаменимых аминокислот (100 по питательной шкале качества белка, основанной на аминокислотном составе). В таблице 2 приведено содержание незаменимых аминокислот в листьях и семенах амаранта. Из данных этой таблицы следует, что баланс аминокислот близок к рекомендуемому ФАО.

Таблица 2  
Содержание незаменимых аминокислот в листьях и семенах амаранта и содержание, рекомендуемое ФАО

Аминокислоты	Содержание аминокислот в листьях, %	Содержание аминокислот в семенах, %	Рекомендации ФАО, %
Изолейцин	3,15–3,20	3,2–3,8	3,7
Лейцин	4,8–5,2	5,7	5,6
Лизин	5,9–6,5	8,0	7,5
Цистеин + метионин	—	3,9–4,4	3,4
Фенилаланин + тирозин	4,52–6,63	6,6–7,3	3,4
Треонин	2,19–4,0	3,2–3,7	4,4
Триптофан	0,5–1,8	0,8–1,6	0,46
Валин	3,02–4,2	2,4–4,6	4,1

Семена амаранта содержат также достаточное количество нерастворимых пищевых волокон, витаминов группы В, РР и С, липидов, богатых полиненасыщенными жирными кислотами, фосфолипидами, токоферолами и скваленом, минеральных веществ, сбалансированных по содержанию макроэлементов (Са, Mg и Р), превосходящих зерно традиционных злаков [2–4]. Семена амаранта, в отличие от других зерновых, содержат очень мало глютелинов, что важно для питания тех, кто обладает повышенной чувствительностью к зерновым, содержащим глютен — смесь глиадина и глютенина, из-за отсутствия у них ферментов, гидролизующих глютелин, и поэтому нуждаются в аглютелиновой диете. Повышенная чувствительность к глютену приводит к развитию патологии у детей.

Семена амаранта характеризуются безопасностью, что обуславливается незначительным содержанием в них таких веществ, как конститутивные ингибиторы трипсина-химотрипсина, протеаз и амилаз, микотоксинов, сапонинов, зеараленона, гемоглутенина, фитатов и таннинов, по сравнению с другими зерновыми и бобовыми культурами [5].

В настоящее время во всем мире ведутся исследования по разработке эффективных технологий промышленной переработки семян амаранта в различных направлениях. Установлена целесообразность применения различных продуктов переработки семян амаранта (цельно смолотой муки, липопротеинового комплекса, белковых изолятов) в пищевой промышленности для повышения пищевой и биологической ценности продуктов питания [6–8]. Разработано несколько главных направлений использования амаранта [11, 12].

Одним из перспективных направлений является разработка и создание растительного концентрата из семян амаранта, который может быть использован как самостоятельный продукт, а также при производстве комбинированных молочных напитков и при выработке специального питания для лиц с повышенной чувствительностью к белкам коровьего молока.

Первый патент на заменитель молока на основе муки амаранта был выдан в 1990 году (К.М. Slimak. Патент США. US 4911943 «Процесс получения продуктов из амаранта»). Для приготовления молока использовалась мука амаранта, которая включала в себя весь крахмал и волокна раздробленных оболочек. Получался концентрат с содержанием сухих веществ от 8 до 30% в зависимости от используемого гидро модуля. Полученный концентрат обладал рядом недостатков органолептического плана, в первую очередь, ощущением

грубых механических частиц, а также большим содержанием жира, так как исходные семена амаранта содержат от 8 до 12% масла.

Простой процесс получения пищевого продукта из семян амаранта запатентован M.S. Garcia (M.S. Garcia. Патент Мексики. МХ РА 04006688 «Пищевой продукт из амаранта, производственный процесс и использование его для кормления людей и/или пациентов с метаболическими нарушениями»). Изобретение связано с процессом получения молока из семян амаранта или напитка из обезжиренной амарантовой муки (шрота амаранта). Особенностью процесса является добавление антиоксидантов типа аскорбиновой кислоты. Это необходимо для сохранения ценных питательных веществ в ходе последующей пастеризации. Полученные молоко и напиток автор рекомендует для пациентов с метаболическими нарушениями.

Оригинальный биотехнологический способ переработки семян амаранта с получением комбинированного молочно-растительного продукта запатентован сотрудниками Воронежской ГТА (Патент РФ RU 2142716 «Способ получения комбинированного молочно-растительного продукта»).

По этому способу промытое, просушенное зерно амаранта размалывалось (крупный помол), затем подвергалось поэтапной экстракции побочным молочным продуктом, в частности, молочной сывороткой, при соотношении экстрагирующей жидкости к сырью (гидро модуле) 10:1.

Сыворотка имеет кислый характер и частично гидролизует протопектин семян. Затем гидроксидом натрия доводят значение рН смеси при перемешивании до 10–11 и нагревают смесь при температуре 60 °С 8–10 часов. В результате гидролиза получают липид-белковый комплекс, обогащенный минеральными веществами сыворотки, в частности, кальцием.

Жом, образующийся в ходе получения липид-белкового комплекса, состоит преимущественно из крахмала и может быть превращен известными способами в биоэтанол.

Приведенные выше способы имеют ряд недостатков, среди которых необходимо отметить высокие концентрации жира в полученном продукте. С целью решения проблемы получения молока или сливок на основе семян амаранта с оптимальным содержанием питательных веществ и отработки наиболее перспективной технологии нами исследовались различные способы, включая и биотехнологические, переработки семян амаранта, в том числе пророщенных, что особенно важно,



поскольку семена амаранта обладают повышенным содержанием масла (8–12%).

Благодаря проращиванию присутствующий в семенах жир подвергается расщеплению, нерастворимые в воде белки подвергаются ферментативному гидролизу с образованием растворимых коротких пептидов и переходят в раствор при экстракции. В процессе активного замачивания обогащенной минералами водой идет аккумуляция биологически активных соединений. Истончаются и частично гидролизуются клеточные стенки и оболочки, что облегчает дробление при последующей механической обработке. Активация воды ультразвуком позволяет ускорить прорастание — появление «глазков».

Для создания концентрата из цельных семян амаранта нами использовалась следующая технология. Целые необрушенные семена светлых сортов амаранта очищали от примесей и пыли на зерновом сепараторе, пропускали через магниты для очистки от металлопримесей, промывали, заливали водой.

Далее применялась электрофизическая активация воды с ее минерализацией и рециркуляционное фильтрование с пропусканием ультразвука через водную среду до появления «глазков» (ростков не более 1–2 мм). Затем семена направляли на дробление до гомогенной массы с помощью лопастного роторного измельчителя ударного действия, после чего проводили экстракцию в горячей воде с гидромодулем 1:3 и отжимали через фильтр.

Полученный продукт представляет собой стойкую, нерасщлаивающуюся пищевую суспензию — растительное молоко, белого цвета с легким кремовым оттенком, с характерным ароматом свежих семян амаранта и приятным сладковатым вкусом.

Данный способ позволяет получить растительное молоко высокой пищевой ценности, содержащее легкоусвояемый модифицированный белок, свободные аминокислоты, растворимые сахара, витамины, макро- и микроэлементы, входящие в состав органических соединений с высокой химической и биологической активностью, энзимы и другие биологически активные вещества.

В связи с тем, что масло из зерен амаранта является биологически эффективным пищевым продуктом и содержит такие ценные ненасыщенные жирные кислоты, как линоленовая, линолевая и олеиновая, витамин Е в активной токотриенольной форме, обеспечивающей его высокие антиоксидантные свойства, а также сквален, природный иммуномодулятор, придающий маслу противовоспалительные и противоопухолевые

и другие свойства [9], нами была разработана схема, позволяющая рационально использовать сырьевые ресурсы, в частности семена амаранта, посредством их двухстадийной переработки и использования жмыха семян амаранта после холодного прессования с целью получения масла.

Жмых амаранта содержит от 30 до 35% сбалансированного белка, от 5 до 10% масла, в зависимости от технологических режимов предварительной подготовки семян и метода прессования. Выход масла при холодном прессовании — до 2%, следовательно, 6–8% ценнейшего продукта приходится на жмых. В свою очередь, использование жмыха, полученного с применением современных технологий подготовки семян и, вследствие этого обогащенного фракцией зародышей, то есть содержащего меньшие количества крахмала и в то же время достаточные количества жира, позволило получить приятный по вкусу напиток с низким содержанием жира и высоким содержанием белков, углеводов и минеральных веществ.

Так, если в соевом молоке, в соответствии с ТУ 9197-001-51722491-99, процентное соотношение жира и белка составляет 1:1,2–1,6, то в полученном образце это соотношение равно 1:2,0–2,2, что очень важно для России, 80% населения которой имеют несбалансированное питание по белку, так называемое «белковое недоедание».

### **Влияние механико-акустического воздействия на процесс гидролиза-экстракции семян амаранта**

Узкое место создаваемой технологии амарантового молока — стадия фильтрования, позволяющая отделять измельченные остатки оболочек, но при этом понижающая производительность технологической схемы. Поэтому нами предпринята попытка обхода этой стадии за счет использования современного оборудования для измельчения и экстракции — роторно-пульсационных аппаратов нового поколения. Роторно-пульсационный аппарат сочетает в себе принципы работы диспергатора, гомогенизатора и центробежного насоса.

Физические основы усиления процессов экстракции заложены в работах В.Ф. Фридмана и др., в которых использовался экстрактор на основе генератора кавитации роторного типа.

Отличительная особенность процесса заключается в том, что измельчение и диспергирование семян и жмыха, гидролиз и экстракция происходят в одном аппарате роторно-кавитационного типа. С целью повышения про-



изводительности и увеличения выхода экстрагируемых веществ использовано устройство — роторно-пульсационный аппарат (РПА) производства НППЦ «Промышленные технологии», в котором генерируется широкий диапазон частот (0–25 кГц) за счет особенностей конструкции аппарата.

С учетом данных по воздействию РПА на полисахариды разработан способ получения амарантовых сливок из жмыха амаранта в РПА путем обработки предварительно замоченного жмыха, содержащего около 8% липидов водой в течение 30–240 с, температуре 40–60 °С, гидромодуле 1:3, в зазоре между статором и вращающимся ротором при значениях градиентов скоростей от  $1,8 \cdot 10^5$  до  $4,6 \cdot 10^6$  м/с × м.

Технологическая схема получения сливок амаранта из жмыха состоит в следующем. Обрабатываемая смесь экстрагирующей воды и белоксодержащего сырья через входной патрубок поступает в корпус и в зазорах между ротором и статором подвергается кавитационным, механико-акустическим воздействиям, в результате чего происходит дезинтеграция жмыха с одновременной высокоэффективной экстракцией белков и водорастворимых веществ в водную фазу.

Установлено, что полученные сливки содержат высокий процент сухих веществ из семян амаранта, являются гомогенными, имеют удовлетворительные органолептические качества и достаточно большой срок сохранности без последующей пастеризации и добавления консервантов.

Путем пульсационных, ударных и других гидродинамических, а также ультразвуковых воздействий, происходящих в РПА, изменяются в лучшую сторону физико-механические свойства производимых продуктов, снижается энергопотребление за счет интенсификации технологических процессов. Использование таких аппаратов позволило получать амарантовые сливки с содержанием сухих веществ не менее 25% за один проход без последующего концентрирования, что особенно важно для сохранения термолабильных питательных веществ.

В настоящее время нами зарегистрированы торговые марки «Амарантовое молоко» и «Амарантэль», предполагающие создание функциональных продуктов питания на основе семян амаранта, обрабатываемых технологии с применением излучения СВЧ-диапазона, ферментных препаратов с целью повышения глубины переработки пищевого сырья и улучшения органолептических свойств новых пищевых продуктов функционального назначения для различных групп населения с учетом

медико-биологических показателей. Разработанная техническая документация ляжет в основу разработки линий по производству биомодифицированных продуктов на основе семян амаранта.

Уникальный химический состав семян амаранта и полученные нами результаты [10, 13] подтверждают как необходимость разработки новых технологий функциональных продуктов, отличающихся в лучшую сторону от своих аналогов, представленных на рынке, так и перспективность разработки напитков и специального питания для лиц с повышенной чувствительностью к белкам коровьего молока на основе современных технологий переработки зерна амаранта.

### Масло амаранта

**Способы получения.** Масло, полученное из семян амаранта, обладает ценным набором биологически активных веществ. В настоящее время в России организовано опытное производство масла семян амаранта, которое рекомендуется использовать как лечебное и профилактическое средство.

Фармакопейные препараты жирных масел получают путем обработки семян и плодов обычными растительными маслами, экстракцией и холодным прессованием. Для приготовления инъекционных растворов применяют масло, получаемое только холодным прессованием.

Отжим семян в холодных прессах приводит к меньшему выходу масел, но эти масла содержат меньше сопутствующих веществ и значительно менее окрашены. При горячем способе прессования удается отжать максимальное количество жирного масла, однако увеличивается и выход сопутствующих веществ (в первую очередь, красящих), а также высокоплавких фракций масла (например, тристеарина).

Экстракционный способ получения масла различными органическими растворителями (чаще всего низкокипящими фракциями бензина) позволяет получить больший выход масла, но и с большим количеством нежелательных сопутствующих веществ (смола и пигментов). Если полученные таким способом масла используются для пищевых и медицинских целей, то они подвергаются тщательному рафинированию.

При сравнительном анализе образцов масла зародышей пшеницы, полученных экстракцией и холодным прессованием, оказалось, что биохимический состав масел, полученных разными методами, в основном идентичен. Наряду с этим в составе масла, полученного прессованием, содержится большое количество глико- и

фосфолипидов, восков, стеринов. Экстракцией в большей степени извлекаются моно- и диглицериды, свободные жирные кислоты, углеводороды.

Предложен также способ получения масла из семян амаранта путем прямой экстракции гексаном с последующим отгоном растворителя в вакууме в среде азота, очистки масла щелочью и специальными сорбентами. Недостатком данного способа является отсутствие дополнительных стадий, позволяющих предотвратить окисление биологически активных соединений, содержащихся в масле, примесями кислорода, которые всегда содержит газообразный азот, используемый в технологическом процессе.

Разработан способ получения масла зародышей пшеницы методом проходного холодного прессования на короткошнековых прессах типа ПШМ. По данному методу перерабатывается зародыш пшеницы с исходной маслячностью 12–14% и выходом масла до 5%, или 35% от общего количества. Данный способ применяют и к переработке семян амаранта. Семена амаранта имеют исходную маслячность 10–12%, и связанных липидов в них меньше, чем в зародыше пшеницы; поэтому выход масла до 6%, что составляет до 50% от общего количества.

Переработка низкомасличных структур с содержанием масла менее 15%, как правило, проводится методом экстракции или органическими растворителями, или жидким диоксидом углерода. Переработка прессованием считается нецелесообразной, нерентабельной и во многих случаях невозможной. Методом холодного прессования получают не только масло, но и жмых, который представляет собой продукт с высоким содержанием протеинов.

Таким образом, в результате переработки семян амаранта можно получать два прекрасных продукта — масло и обезжиренную муку амаранта, готовые к дальнейшему использованию в фармацевтической и пищевой промышленности.

Суть технологии масляной экстракции состоит в том, что подогретое растительное (кукурузное) масло пропускают через амарантовую муку, в процессе чего ряд полезных соединений из зерен амаранта «перекочевывает» в растительное масло.

Недостатком такого вида экстракции является необходимость нагревать экстрагент до 70 °С, что приводит к разрушению ряда биологически активных компонентов. Кроме того, полученный продукт крайне неустоек и реально сохраняет свои качества в течение 7–10 дней после изготовления.

Недостатком экстракции при помощи органических растворителей, например, гексана, является невозможность полностью извлечь его из готового продукта, и поэтому использование его ограничено только наружным применением.

Наиболее эффективным методом получения амарантового масла является экстрагирование при помощи СФЭ-СО<sub>2</sub>. В настоящее время в НИЦ ЭР «Горо», являющимся единственным производителем сверхкритических углекислотных экстрактов в России, освоена технология получения амарантового масла при температуре экстрагирования 50 °С и давлении 300 атм. Технология позволяет получать продукт с содержанием сквалена не менее 8% и минимальным содержанием свободных жирных кислот, способствующих прогорканию масла. Возможность модулирования качественного и количественного состава продукта в ходе экстракционного процесса обеспечивается изменением параметров давления и температуры. Получаемая таким образом определенная плотность экстрагирующего газа позволяет получать те или иные фракции неполярных составляющих исходного материала.

Преимуществом СФЭ-СО<sub>2</sub> экстракции является получение веществ, чувствительных к нагреванию. При этом виде экстракции отсутствуют химические остатки органических растворителей в конечном продукте, сохраняется натуральный характер экстрактов, устраняются нежелательные вещества и сохраняется эффективная концентрация желательных веществ. Растворитель — углекислый газ — легко отделяется от готового продукта благодаря чрезвычайной летучести и является абсолютно нетоксичным.

Таким образом, СФЭ-СО<sub>2</sub> экстракция является наиболее оптимальной для такого сырья, как амарант, поскольку позволяет выделять из семян амаранта масляный экстракт с наиболее полным содержанием в нем сквалена и комплексом ПНЖК, а в качестве шрота получать белковую массу с присущим амаранту аминокислотным и микроэлементным составом, готовую к употреблению, например, в БАДах.

**Физические свойства, химический состав.** В работах ряда исследователей (Сафонова Е.Ф. и др.) были определены физические константы и химические показатели качества масла.

Установлено, что амарантовое масло — это прозрачная маслянистая жидкость с характерным, свойственным амарантовому маслу, запахом; специфическим привкусом без горечи; оранжево-красного цвета. Следует отметить, что цвет масла может меняться от темно-оранжевого до вишнево-красного.

Плотность масла составляет 0,920–0,930 г/см<sup>3</sup>.

Показатель преломления: 1,447–1,455.

Кислотное число для амарантового масла должно быть в пределах 5 мг КОН/г.

Число омыления для амарантового масла должно быть в интервале 160–200 мг КОН/г.

Йодное число для амарантового масла должно быть в пределах 150–180%.

Величина цветного числа не должна превышать 50%.

Массовая доля общей золы не должна превышать 4%.

Содержание влаги и летучих веществ для амарантового масла, по данным автора, не должна превышать 0,4%.

Лечебные свойства масла семян амаранта обусловлены наличием в нем таких биологически активных веществ, как сквален, токоферолы (витамин Е в форме токотриенола), фитостерины, фосфолипиды и полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК).

Сквален относится к важнейшим биологически активным соединениям и выполняет в организме роль регулятора липидного и стероидного обмена, являясь предшественником целого ряда стероидных гормонов, холестерина и витамина Д.

Токоферолы содержатся в масле в основном в виде биологически наиболее активной триенольной формы. По данным Института питания РАМН, общее содержание токоферолов в масле семян амаранта может достигать 2%. Являясь природными жирорастворимыми антиоксидантами, токоферолы и особенно токотриенолы препятствуют свободнорадикальным реакциям, нормализуют липидный обмен, снижают уровень холестерина в крови. Витамин Е необходим человеку, особенно в пожилом возрасте, для нормализации работы сердца, улучшения холестеринового баланса и в качестве антиоксиданта для профилактики онкологических заболеваний.

Кроме того, в масле семян амаранта содержатся в достаточно большом количестве фосфолипиды, преобладающим компонентом которых является фосфатидилхолин (лецитин) и фосфатидилинозитол. Биологическая роль этих веществ общеизвестна. Содержание фосфолипидов в масле семян амаранта может достигать 10% в зависимости от сорта семян.

И еще одна группа биологически активных соединений представлена в масле. Это — фитостеролы. Их содержание составляет в среднем 2%. Различают 5 типов фитостеролов. Все они являются производными сквалена и поэтому обладают способностью снижать

уровень холестерина в крови. Наибольшей физиологической активностью обладают  $\beta$ -ситостерол, кампастерол и стигмастерол.

Растительные масла — это смесь жирных кислот, из которых наибольшую ценность представляют полиненасыщенные жирные кислоты. Три из них (линоленовая, линолевая, арахидоновая) являются незаменимыми, то есть они не синтезируются в организме и должны поступать в него с пищей. После ряда превращений ПНЖК становятся неотъемлемой частью клеточных мембран, от которых зависит обмен веществ во всем организме. Ни одна клетка не работает должным образом без достаточного количества ПНЖК.

В масле семян амаранта содержится до 50% линолевой кислоты — главной в ряду ПНЖК. Линолевая кислота — это одно из самых сильных природных средств снижения уровня холестерина в крови и нормализации кровяного давления. Она способствует растворению холестериновых бляшек, которые уже отложились на стенках сосудов.

Состав жирных кислот представлен в таблице 3.

**Таблица 3**  
**Состав основных жирных кислот масла семян амаранта (% от суммы)**

Код Сп	Жирные кислоты	Амарантовое масло
16:0	Пальмитиновая	22,01
18:0	Стеариновая	2,15
18:1	Олеиновая	23,10
18:2	Линолевая	50,03
18:3	Линоленовая	0,78
	Остальное	1,93
	Итого:	100%

Таким образом, масло амаранта обладает уникальным набором биологически активных веществ и представляет несомненный интерес для медицины и фармации, пищевой и парфюмерной промышленности.

**Лечебное применение.** Масло семян амаранта сочетается с любым медикаментозным лечением; ликвидирует побочные явления после применения медикаментов или других методов активной терапии; улучшает функцию почек, печени; уменьшает проявление токсикозов; нормализует показатели мочи и крови; мягко воздействует на слизистую оболочку желудка и кишечника; восстанавливает работу клеток и эпителия;

подавляет патогенные микроорганизмы, микрофлору, выводя из организма их токсичные продукты; помогает восстановлению работы желез внутренней секреции, кровеносной системы; предупреждает и защищает от развития эрозивных процессов. Кроме того, масло семян амаранта само по себе или в сочетании с другими средствами является эффективным диетическим продуктом, способствующим укреплению иммунной и гормональной систем; устранению нарушения обмена веществ, выводу шлаков, радионуклидов и солей тяжелых металлов из организма; улучшению состояния при анемии; нормализации физиологических отправлениях желудочно-кишечного тракта и других функций организма.

Амарантовое масло (само по себе или в сочетании с другими косметическими средствами) эффективно при физиотерапии, массаже, в качестве косметического средства для омоложения и восстановления кожи лица и тела, повышает тонус мышц. При длительном применении уменьшает или устраняет целлюлит, увеличивает упругость мышц груди, бедер, ягодиц, обладает антиварикозным действием, уменьшает вегето-сосудистую дистонию.

Амарантовое масло в сочетании с маслом зародышей пшеницы и содержанием сквалена не менее 1000 мг% является наиболее мощным природным антиоксидантом, способным на клеточном уровне подавлять образование свободных радикалов, снижая риск возникновения онкологических заболеваний и старения организма.

Из зарубежных источников известно, что амарант успешно используется при радиотерапии. Если смазать участок кожи, под которым находится опухоль, дозу облучения можно заметно увеличить без риска получить радиационный ожог. Употребление амарантового масла до и после радиационной терапии заметно ускоряет восстановление организма пациентов.

По данным, полученным из отечественных и зарубежных источников, амарантовое масло можно рекомендовать к применению в следующих случаях:

- профилактика сердечно-сосудистых заболеваний, атеросклероза;
- профилактика онкологических заболеваний;
- профилактика заболеваний кожи при загаре в солярии и приеме солнечных ванн;
- лучевые и солнечные ожоги;
- раны и другие механические повреждения кожных покровов, гематомы;
- устранение и нивелирование свежих рубцов, в том числе послеоперационных;
- маститы, мастопатии;

- гинекологические заболевания;
- дерматологические заболевания (псориаз, экзема, нейродермит, трофические язвы и т. д.);
- нарушения обмена веществ;
- восстановление и укрепление иммунной и гормональной систем;
- восстановление и омолаживание кожных покровов лица и тела;
- коррекция фигуры в проблемных областях, борьба с целлюлитом.

Канадская компания «SuLin International» использует амарантовое масло в составе набора продуктов, известного как «Master Formula» и предназначенного для детоксикации организма.

### Сквален

**Лечебно-профилактические свойства.** Следует указать на то, что амарантовое масло является перспективным источником сквалена (от лат. «*Squalus*» — «акула») — ациклического полиненасыщенного жидкого углеводорода состава  $C_{30}H_{50}$ . Сообщалось, что масло амаранта содержит большие количества сквалена (2,4–8,0%) по сравнению с другими маслами овощей. Содержание сквалена в *Amaranthus cruentus* было определено как 0,43% от общей массы семян. К тому же сквален присутствует в количестве 0,73% в семенах *Amaranthus hypochondriacus* и 1,32% — в *Amaranthus pumilus* [9].

Следует более подробно остановиться на сквалене как в контексте биотехнологического значения амаранта, так и в плане его химических, биологических и терапевтических свойств.

Сквален уже давно используется в качестве компонента лекарственных и профилактических средств.

Сквален в составе амарантового масла обладает уникальными ранозаживляющими свойствами, легко справляется с большинством кожных заболеваний, включая экзему, псориаз, трофические язвы, ожоги. Попадая в организм человека, сквален активизирует регенеративные процессы тканей внутренних органов.

Необходимо отметить использование сквалена и в парфюмерно-косметической отрасли. На его основе выпускаются кремы и гели, омолаживающие кожу лица, способствующие исчезновению морщин, зубные пасты и др. Наиболее широко его используют для пролонгирования и стабилизации душистых парфюмерных изделий. В Японии выпускается зубная паста на основе сквалена, обладающая лечебно-профилактическими свойствами.



Микроэмульсионные сквалены или эмульсии сквалена являются эффективными вспомогательными средствами, активирующими одновременно гормональные и клеточные иммунные реакции. Микроэмульсионное стабилизирует эмульсии и позволяет осуществлять очистку за счет периодически повторяющейся фильтрации. Эмульсии стабильны в течение многих лет при температуре окружающей среды и могут быть заморожены.

Применяют сквалены и как высококачественное смазочное масло, неподвижную фазу в газожидкостной хроматографии.

**Способы получения сквалена.** До недавнего времени сквалены получали только из печени акул (содержание может быть от 60 до 90% в зависимости от вида акул), в результате чего его стоимость была настолько высока, что массовое его использование становилось практически невозможным в силу своей экзотичности.

Синтезируют сквалены по реакции Виттига из 1,4-дибромбутана и транс-геранилацетона  $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{C}(\text{H}(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}(\text{CH}_2)_2\text{COCH}_3)$ ; транс-изомер выделяют через аддукт с тиомочевинной. С галогеноводородами сквалены образует хорошо кристаллизующиеся продукты присоединения,  $\text{SbCl}_3$  в  $\text{CHCl}_3$  окрашивает его в фиолетово-розовый цвет, с фосфорномолибденовольфрамовой кислотой дает синее окрашивание. Трихлорид сурьмы в хлороформе может использоваться для идентификации сквалена при тонкослойной хроматографии.

Из легко возобновляемых растительных ресурсов сквалены в небольших количествах находятся в масле из зародышей пшеницы и рисовых отрубей, а также в дрожжах.

Был описан способ получения сквалена и фитостероидов путем сверхкритического способа экстракции из оливкового масла и пальмового масла в качестве одно из субпродуктов (200–600 про миле), а также из коры хинного дерева, эфедры и *Spidorela polyrhizia*.

Возможности нового для России вида экстракции сверхкритическим флюидом диоксида углерода позволили обнаружить присутствие сквалена в сверхкритических экстрактах брусники (0,34%), змееголовника (0,67%), душицы (0,15%), мяты перечной (0,36%), Melissa (0,57%), фукуса (0,07%), семян черной смородины (0,16%), пиона уклоняющегося (0,22%), клюквы (0,19%), чабреца (1,18%), чаги (0,45%), каштана конского (4,19%), полыни обыкновенной (1,3%). Перерасчет производился на жирорастворимую массу экстракта

(данные приведены по технологическим разработкам НИЦ ЭР «Горо»).

Наиболее высокое содержание сквалена, по литературным данным, было обнаружено в амарантовом масле — от 8 до 15%, в зависимости от технологии получения.

**Химические свойства сквалена.** Сквалены являются тритерпеном [14]. Как известно, терпены представляют собой ненасыщенные углеводороды состава  $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$ , где  $n \geq 2$ . Они рассматриваются как продукты полимеризации изопрена (2-метилбутадиена-1,3).

Изопреноиды широко распространены в природе, к ним относятся убихинон, каротин, жирорастворимые витамины (А, D, К, Е), циклические терпеноиды (камфора, лимонен).

Терпены практически нерастворимы в воде, хорошо растворимы в неполярных органических растворителях; легко окисляются, полимеризуются, гидрируются, галогенируются, изомеризуются. Ациклические терпены легко превращаются в циклические, в частности, сквалены являются промежуточным метаболитом в синтезе холестерина.

Биосинтез сквалена осуществляется из мевалоновой кислоты, которая превращается в фарнезилпирофосфат и далее под действием скваленсинтетазы в присутствии тиамин превращается в сквалены. Ферментативное превращение сквалена в ланостерин и из него в холестерин и другие стеринны начинается с аэробного окисления концевой двойной связи.

Биогенетическая взаимосвязь сквалена и холестерина предполагалась Ченноном еще в 1926 году, однако достоверно участие сквалена в образовании углеродного скелета холестерина было установлено лишь в 1953 году

Независимо друг от друга Блох и Линен доказали, что мевалоновая кислота переходит в химически активный изопрен, из которого образуется ненасыщенный углеводород сквалены и в конечном итоге холестерин.

Сходство молекулы сквалена с каротином, тушителем синглетного кислорода, позволяет предположить, что сквалены также выполняет подобную функцию. Как было недавно показано, сквалены являются наиболее сильным тушителем синглетного кислорода среди всех липидов себума и его активность как антиоксиданта сравнима с 3,5-ди-трет-бутил-4-гидрокситолуолом [15].

Природный сквалены является полностью транс-изомером. При гидрировании сквалены образует скваланы (спинакан, 2,6,10,15,19,23-гексаметилтетракозан), молекулярная масса = 422,83; бесцветная жидкость; т. пл.



-38 °С, т. кип. 370 °С; плотность 0,805–0,812 г/см<sup>3</sup>; показатель преломления 1,4520–1,4525; растворим в бензоле, ССl<sub>4</sub>, горячем абсолютном этаноле, смешивается с растительными и минеральными маслами, не растворим в воде.

**Биологическая роль сквалена.** Сквален является предшественником холестерина у человека, животных и эргостерола у низших эукариот и прокариот. Уровень сквалена в тканях различной этиологии и начальные этапы биотрансформации определяют, в конечном счете, не только концентрацию холестерина, ЛНП и ЛВП в крови, но и гомеостаз стероидных гормонов и уровень желчных кислот.

**Биосинтез и регуляция сквалена и холестерина у человека.** У человека и животных холестерин образуется по пути через мевалоновую кислоту и фарнезилпирофосфат.

Однако считается, что уровень ключевого интермедиата — сквалена, определяет, в конечном счете, уровень холестерина, эфира холестерина и соотношение ЛНП и ЛВП в плазме крови и холестерина в клетках-мишенях, таких как гепатоциты, кератиноциты и астроциты. Предполагается, что биосинтез холестерина регулируется продуктом по отрицательному механизму.

При истощении пула холестерина в клетках индуцируется экспрессия генов, кодирующих 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА синтазу и 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА редуктазу, сквален синтазу, сквален 2,3-эпоксидазу (СУР 4А), а также повышается экспрессия рецепторов ЛНП на клетках и ферментов биосинтеза жирных кислот.

Имеются данные литературы о том, что при изучении механизма действия на крыс некоторых ядовитых металлов, таких как теллур, показано, что мишенью яда являлась сквален 2,3-эпоксидаза нейронов и клеток глии. Подавление синтеза холестерина в нейронах приводило к остановке синтеза миелина как в ЦНС, так и в вегетативных ганглиях.

В случае, когда животные получали теллур *per os* в течение 5 дней, в гепатоцитах наблюдали накопление свободного сквалена, концентрация которого составила 10% от массы печени. Накопление сквалена приводит к индукции скваленэпоксидазы даже в присутствии ингибиторов фермента.

По-видимому, подавление скваленэпоксидазы в клетках нейроглии приводило к энцелофопатии, нарушению движения и памяти у животных.

Следует отметить, что патологическое накопление сквалена в организме или введение экзогенного сквале-

на приводили к артриту и аутоиммунным состояниям у животных.

**Молекулярные механизмы патофизиологии сквалена.** Сквален и продукты окисления сквалена с конца 80-х годов XX века привлекали внимание дерматологов, поскольку тогда впервые была установлена зависимость между скоростью окисления сквалена в клетках кожи и индукции воспаления сальных желез (комедогенез) с последующим развитием акне.

Наиболее многочисленную группу пациентов, возможных потребителей ингибиторов скваленсинтазы, составляют сегодня молодые люди до 30 лет, активно занимающиеся культуризмом и фитнесом.

По данным ряда авторов, среди побочных эффектов приема метаболон 43% составляет акне. В связи с этим предполагается, что экзогенный тестостерон метаболизируется под воздействием СУР 3А3-4 до дигидротестостерона, прямого индуктора пролиферации кератиноцитов.

## Литература

1. *Статистический обзор «Российский рынок продуктов детского питания (сухих смесей-заменителей грудного молока и детских каш».* — М.: Мосвнешинформ, 2007. — 12 с.
2. *Матвеева И.В.* Взаимосвязь качественных и диетических показателей хлеба с технологическими и функциональными свойствами сырья: Автореф. дис. д-ра техн. наук. — М., 1993. — 50 с.
3. *Пащенко Л.П., Жаркова И.М.* Рациональное использование растительного белоксодержащего сырья в технологии хлеба. — Воронеж: ФГУП ИПФ «Воронеж», 2003. — 239 с.
4. *Sala M., Berardi R.* Amaranth seed: Le potenzialita // Riv. Ital. Sostanze grasse. — 1998. — Vol. 75. — N 11. — P. 503–506.
5. *Tamir S., Bell J., Finlay T., Sakal E., Smirnoff P., Gaur S., Bir Y.* Isolation, characterization, and properties of a trypsin-chymotrypsin inhibitor from amaranth seeds // J. Protein Chem. — 1996. — Vol. 15. — N 2. — P. 219–229.
6. *Скурихин И.М., Волгарев М.Н.* Химический состав пищевых продуктов. — М.: Агропромиздат, 1987. — 360 с.
7. *Матвеева И.В., Пучкова Л.И., Луценко У.Н., Писковец В.В., Юдина Т.А.* Применение муки из семян амаранта при производстве хлеба: Обзор. — М.: ЦНИИТЭИ хлебопродуктов, 1994. — 32 с.
8. *Пащенко Л.П., Макеев А.М., Магомедов И.М.* Липопротеиновый комплекс из амаранта — биологический улучшитель продуктов // Пищевая промышленность. — 1990. — № 2. — С. 38–40.

9. He H.P., Cai Y., Sun M., Gorke H. Extraction and purification of squalene from amaranthus grain // J Agric. Food Chem. — 2002. — Vol. 50. — P. 368–372.
10. Зеленков В.Н., Офицеров Е.Н., Михеева Л.А. Амарант — источник биогенного кальция // Химия и компьютерное моделирование. Бутлеровские сообщения. — 2001. — № 5 (Код 1vr9).
11. Офицеров Е.Н. Амарант — перспективное сырье для фармацевтической промышленности // Химия и компьютерное моделирование. Бутлеровские сообщения. — 2001. — № 5 (Код 1vr10).
12. Офицеров Е.Н. Углеводы амаранта и их практическое использование // Химия и компьютерное моделирование. Бутлеровские сообщения. — 2001. — № 5 (Код 1vr11).
13. Коростелева Ю.А., Офицеров Е.Н. Особенности схем комплексного использования надземных частей амаранта и козлятника восточного / Тезисы Третьей Всероссийской конференции «Химия и технология растительных веществ». Саратов, 2004. — 348 с.
14. Попова И.Ю., Водяник А.Р. Амарантовое масло как источник сквалена. Обзор применения и новый способ получения. <http://www.extract.ru/index.php?id=69>
15. Kohno Y., Egawa Y., Itoh S., Nagaoka S., Takahashi M., Mukai K. Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol // Biochem. Biophys. Acta. — 1995. — Vol. 1256 (1). — P. 52–56.

## Интернет-источники:

- <http://www.amarant.aktiv.ru/bessmertnyi.htm>  
<http://bio.1september.ru/2004/01/12.htm>  
<http://www.cmjournal.com/arc/r0501a.htm>  
<http://www.greeninfo.ru/siter/?page=2882>  
<http://meatbusiness.ua/article.php?p=2838j=1>  
<http://www.Floraprice.ru/articles/ogorod/2005-7-13.phtml>

## ВАВИЛОВ И БЭТСОН: УЧЕНИК И УЧИТЕЛЬ: НОВЫЕ ИСТОРИЧЕСКИЕ НАХОДКИ. К 120-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ Н.И. ВАВИЛОВА

В.С. ВОРОБЬЕВ\*, О.В. ВОРОБЬЕВА

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

«Рукописи не горят», — эта фраза М. Булгакова часто приводится для доказательства бессмертия слова или когда-то высказанной идеи. Нельзя понимать данную цитату буквально. Рукописи горели и в средние века, и даже в 30–40-е годы XX столетия в цивилизованных странах Европы (Германия, Россия). Есть конкретный пример: уничтожение рукописей Н.И. Вавилова при его аресте [12]. О Германии говорить нет необходимости: все видели костры из книг в кнхронике III Рейха.

Но бывают и счастливые исключения. Судьба все-таки спасла от уничтожения некоторые уникальные документы, связанные с творчеством Н.И. Вавилова, и среди них — книгу его учителя Уильяма Бэтсона «Проблемы генетики» (1913) на английском языке (рис. 1) из личной библиотеки Николая Ивановича с его экслибрисом «Библиотека академика Н.И. Вавилова» на авантитуле (рис. 2) и пометками на полях [27].

Книга была приобретена одним из авторов в букинистическом магазине г. Москвы в феврале 1974 года и хранится в домашней библиотеке как бесценный раритет. Несколько лет назад книга была показана сыну Н.И. Вавилова Юрию Николаевичу (доктору физ.-мат. наук, сотруднику ФИАНа, исследователю жизни и деятельности своего отца), и он подтвердил принадлежность реликвии (она имеет номер в библиотеке Н.И. Вавилова 9/48) и подлинность руки ученого. Предварительная графологическая экспертиза также верифицировала сходство почерка. Наконец, имеются и косвенные свидетельства: сам владелец книги неоднократно высказывался о перечитывании ее, то есть об активной работе с текстом [5].

Авторы не считают себя достаточно компетентными в изучении творчества Н.И. Вавилова и истории

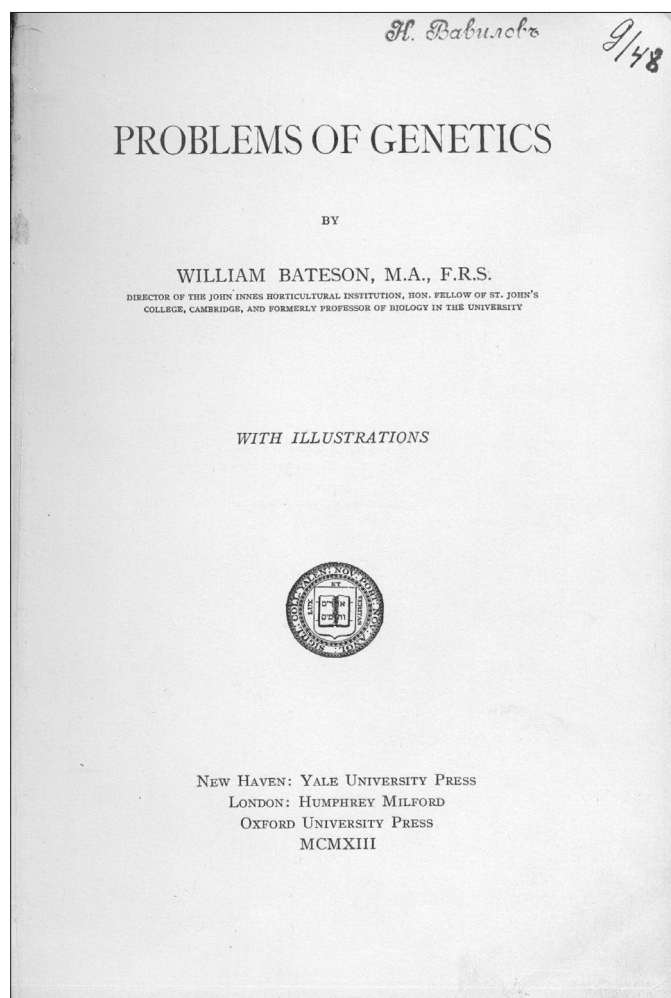


Рис. 1. Титульный лист книги У. Бэтсона «Проблемы генетики» (1913) с автографом Н.И. Вавилова

генетики в целом, хотя интерес к этому направлению проявляют и имеют публикации [14, 15, 17, 24]. Поэтому до определенного времени сдерживали себя в стремлении прокомментировать тему «Вавилов и Бэтсон», однако в связи со 120-летним юбилеем со дня рождения Николая Ивановича решили нарушить молчание.

Прежде всего, следует воспроизвести историческую и биографическую канву, объединяющую два замечательных имени, чтобы определить адекватные место и

\* Автор для переписки:

© 2007 г. Воробьев Вадим Сергеевич,  
к.м.н., член Центрального Правления ОБР  
119296 Москва, Университетский пр-т, 9  
E-mail: obr@biorosinfo.ru



значение указанной книги. История их взаимоотношений открывается стажировкой молодого Вавилова в Англии у Бэтсона в 1913–1914 гг.

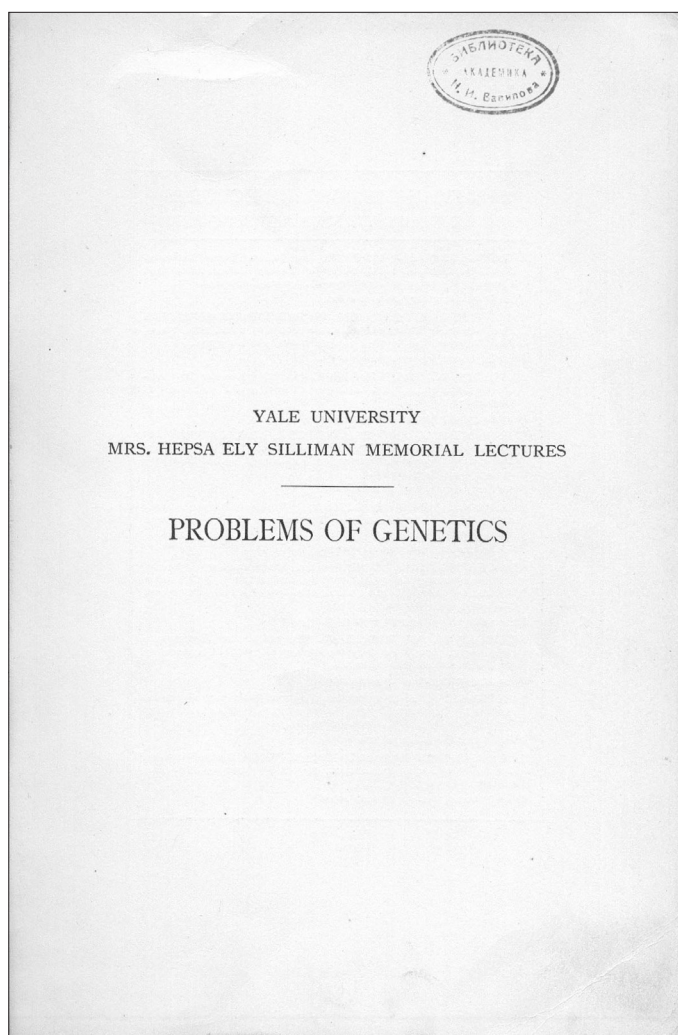


Рис. 2. Эклибрис Н.И. Вавилова на авантитуле книги Бэтсона

Николая Вавилова командировали на два года за границу «для завершения образования» в рамках подготовки к профессорскому званию при кафедре Д.Н. Прянишникова. Первым пунктом он избрал лабораторию генетика У. Бэтсона. К этому времени он уже был женат на Е.Н. Сахаровой и поэтому отправился в путешествие вместе с супругой. Об этом времени Николай Иванович оставил прекрасные воспоминания и описания. Многие биографы прибегают к цитированию, настолько точно и летописно он все преподносил. Постараемся же рассказать своими словами и к цитатам прибегать только по показаниям.

Можно было понять талантливого выпускника Петровки (ныне — Тимирязевки), когда он попал в местечко Мертон, неподалеку от Лондона, где располагался

Садоводческий институт им. Джона Иннеса (покойного благотворителя), которым руководил У. Бэтсон. В 1913 г. это учреждение представляло собой крупный европейский институт с 15 научными сотрудниками, работавшими с животными и растениями в различных областях генетики. Сам 52-летний руководитель института был на пике своей славы (рис. 3).



Рис. 3. Портрет У. Бэтсона

Крупный биолог, эмбриолог, создатель учения о прерывистом характере изменчивости, адепт и пропагандист взглядов Менделя среди англоязычных специалистов, автор известной книги «Менделевские принципы наследственности» (1902) и изобретатель термина «генетика» (1906), основатель журнала «Journal of Genetics» (1911), он стал центром притяжения для многих исследователей, проявлявших интерес к генетике. 25-летний Вавилов (он в то время выглядел так — рис. 4) не обманулся в своих ожиданиях и, попав, по его словам, в «Мекку и Медину генетиков всего мира» [5], с жаром принялся за работу. Будучи книжником, как



Рис. 4. Н.И. Вавилов в Англии (1913–1914 гг.)

и его знаменитый брат Сергей, президент АН СССР, Николай был восхищен прекрасной личной библиотекой Бэтсона, ознакомился с современной научной литературой и кое-что приобрел. «Лучшее, что я нашел сегодня, это бэтсоновские материалы... Я не мог не купить их» [16]. Вообще, Н.И. Вавилов за более чем годичное пребывание за границей (кроме Англии, еще Франция и Германия) сумел подобрать большую коллекцию книг и архивов (семена, гербарии и др.), которую отправил багажом на пароходе «Руно». Однако, к сожалению, корабль подорвался на mine (тогда уже началась Первая мировая война) и затонул вместе с ценным грузом (в нем была и фотография Бэтсона с его автографом; впоследствии Николай Иванович в письме к нему попросил возобновить подарок).

Общение с директором института, вопреки представлениям русского стажера, оказалось простым, открытым и дружелюбным. Он разрешил ему продолжить исследования по иммунитету к грибковым заболеваниям у пшениц, начатые в России (причем, Бэтсон сделал это с удовольствием, поскольку начинающий ученый

так избавил его от придумывания ему темы). Вавилову были предоставлены деланки, на которых он завершил свои работы по докторской диссертации.

Здесь же, в Англии ему посчастливилось поработать в Лондонском Линнеевском обществе, где он ознакомился с гербариями, собранными самим Линнеем. По заданию А.И. Мальцева из Бюро прикладной ботаники Р.Э. Регеля он особенно тщательно изучил папку с овсягами и промерил длину колосковых пленок (впоследствии ему это все пригодилось при формировании закона гомологических рядов). Пробыл Вавилов несколько дней в Шрусбери, где ему была предоставлена возможность в библиотеке Ч. Дарвина поработать с трудами классика в подлиннике, в том числе с рукописями, дневниками и другими материалами.

Вторая встреча Вавилова и Бэтсона произошла в ноябре 1921 г., когда Николай Иванович вместе со своим коллегой А.А. Ячевским возвращался из двухмесячной командировки в США и Канаду и по дороге домой посетил Мертон [3]. В результате были восстановлены контакты, прерванные войной, возобновилась переписка [20, 21] и т.д. Следует отметить, что Бэтсон сильно помогал Вавилову при получении виз в различные страны, когда тот отправлялся в свои ставшие многочисленными зарубежные поездки. Надо полагать, что Н.И. Вавилов способствовал созданию имени английскому ученому в академических кругах России. В результате 1 декабря 1923 г. У. Бэтсон был избран иностранным членом Российской академии наук: членом-корреспондентом по разряду биологических наук (зоология) — в этот же день того же года и Николай Иванович стал членом-корреспондентом по разряду биологическому (ботаника).

Третья и последняя встреча ученика и учителя (Вавилов всегда подчеркивал это и называл его «первым апостолом нового учения») состоялась в сентябре 1925 г. в России, куда английский ученый прибыл в качестве почетного гостя на празднование 200-летия Российской академии наук. Николай Иванович опекал и сопровождал его при посещении научных учреждений Ленинграда и Москвы. Тогда были сделаны исторические фотографии, запечатлевшие эти моменты (рис. 5). О тех днях по приезду на родину Бэтсон написал статью [25], которая недавно (1999, 2000) была опубликована на русском языке (с предисловием И.А. Захарова). А через 5 месяцев великий генетик неожиданно скончался от пневмонии на 65-м году жизни. Н.И. Вавилов немедленно откликнулся прочувствованным некрологом с глубоким анализом творчества покойного учителя [5]. Был написан также некролог и Ю.А. Филипченко (1926).





Рис. 5. Н.И. Вавилов и У. Бэтсон в Ленинграде (1925 г.)

События далее развивались таким образом, что вместе с критикой и трагическим уходом из жизни в 1943 г. Н.И. Вавилова, а также общегосударственными мероприятиями в СССР по искоренению менделизма и генетики как науки подверглись забвению имена обоих ученых. Начиная с середины 60-х годов XX века в связи с отстранением Т.Д. Лысенко доброе имя Николая Ивановича постепенно стало восстанавливаться, напечатаны его труды и биографии [1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 21, 22, 23, 25], а вот имя У. Бэтсона лишь упоминалось в списке повторных открывателей Грегора Менделя: Г. де Фриза, В. Йогансена и др. Однако положение дел начинает улучшаться в последнее время в связи с целенаправленной деятельностью Т.Е. Либаккой, которая посвятила творчеству Бэтсона ряд обстоятельных научно-исторических работ [18, 19]. Вряд ли стоит упоминать, что на Западе имена Бэтсона и Вавилова по достоинству оценены и специалистами, и исторической наукой.

Итак, каково же место книги «Проблемы генетики» [27] в контексте взаимоотношений учителя и ученика? Прежде всего, современный читатель должен себе представить ее структуру и основное содержание. Это — довольно объемистый том в 259 страниц, отпечатанный на плотной, полукартонной бумаге, с черно-белыми иллюстрациями и двумя цветными вклейками. В ней — предисловие, оглавление, 11 глав, предметный и авторский указатели. Содержательную ее основу, как указывает автор в предисловии, представляет курс Силлимановских мемориальных лекций, прочитанных У. Бэтсоном в Йельском университете (США) в 1907 году. Первый тираж (1000 экз.) отпечатан в августе 1913 г.

Авторские права — Йельский университет. Цена — 4 доллара по курсу того времени. Небезынтересно будет отметить, что в серии Силлимановских лекций были изданы (начиная с 1901 г.) книги Дж. Дж. Томсона, Ч. Шеррингтона, Э. Резерфорда, В. Нернста, У.У. Кэмпбелла, Сванте Аррениуса, Макса Ферворна, У. Ослера. Это все — мировые светила в науке.

Естественно, что выход в свет лекций с 6-летней отсрочкой наложил отпечаток на уровень знаний, поскольку появились новые данные (об этом говорит Бэтсон). Поэтому автор делает некоторые ретроспективные добавления (например, к главе 9, в конце которой приводятся результаты 1912 года). Однако в целом информация соответствует 1907 году — времени реального чтения лекций.

Теперь встают два главных вопроса — где и когда попала в руки Вавилова книга, о которой идет речь в настоящей статье, и в какое время он делал ремарки в ней? Принадлежность книги ему после экспертизы сына не вызывает сомнений.

Ясно, что восстановить подлинную ситуацию пока можно только в предполагаемых вариантах.

*Версия первая.* Труд Бэтсона он мог приобрести в Англии, начиная с осени 1913 до весны 1914 гг. (выше указано, что издание вышло в свет в августе 1913 г.). Тогда же по горячим следам, по первым впечатлениям он мог сделать свои заметки на полях. Слабая сторона версии — книга могла быть упакована с багажом, который утонул в Балтийском море летом 1914 г. (см. выше). Однако этот пункт можно отметить, если посчитать, что как слишком дорогую и полезную вещь, по сути, настольную книгу, он мог ее не сдать в багаж, а везти с собой. Может быть, в пользу дореволюционного приобретения говорит и отпечаток фамилии владельца с буквой «ъ» на авантитуле (хотя такой штампик он мог поставить и после революции) (см. рис. 1).

*Версия вторая.* Книга куплена позже, в 20-е годы в США или других странах, которые он посетил. Соответственно в это же время была работа с бэтсоновским текстом. Но, скорее всего, эта версия менее вероятна.

Придумывать другие версии или различные их комбинации — дело неблагоприятное для научно-исторических исследований.

Имеется еще проблема использования книги после смерти ученого. Если акцент сделать только на графологическом анализе, то коэффициент полезного действия будет невелик. Да и вряд ли нужно идти по пути расследования, сопоставлений, доказательств от противного и др., тем более, что картину могут путать ремарки более

поздних лиц, работавших с книгой. Лучше остановиться на работе с позитивной информацией. Здесь нам помощник сам Вавилов, который оставил для истории свой анализ книги Бэтсона. Обратимся к его комментариям, взятым из некролога памяти учителя [5].

«В 1913 году выходит замечательная книга Бэтсона под названием «Проблемы генетики», которая представляет собой критический обзор основных генетических проблем. Можно сказать, что во всей генетической литературе 20-го века эта книга занимает исключительное место по своей проницательности, свежести; можно перечитывать книгу эту много раз. Какие проблемы она затрагивает, об этом можно судить по содержанию глав: Проблемы вида и разновидностей; Меристические явления; Классификация изменчивости; Мутационная теория; Изменчивость и среда; Влияние внешних условий; Бесплодие гибридов. Этим проблемам суждено еще долгое время приковывать внимание генетика» (стр. 504–505).

«Критика учения о приобретенных признаках и мутационной теории была наиболее выпукло сделана Бэтсоном. Его книга «Проблемы генетики» многих из нас заставила коренным образом переменить свои воззрения на вопросы о мутациях, о ламаркизме» (стр. 507).

«Каждая статья, речь Бэтсона отражает необыкновенную оригинальность, своеобразие подхода, особую формулировку, всегда в прекрасной, литературной форме. Речь президента Австралийского Конгресса, «Проблемы генетики», даже ряд специальных статей не только останавливают читателя глубиной мысли, но и художественностью изложения» (стр. 507).

Эти слова написаны Николаем Ивановичем в начале 1926 года. Видно, насколько глубоко он знает данное классическое произведение выдающегося генетика, как он ценит ее сущностные и эстетические достоинства. Таким образом, его основательная работа с текстом бэтсоновской книги могла произойти и действительно произошла (по крайней мере, в основной части) в промежутке 1913–1925 гг.

После таких вводных разъяснений существа вопроса теперь перейдем к собственному анализу текста книги и того, как работал с ней внимательный и достаточно подготовленный читатель.

Необходимо сделать обязательное общее замечание: записи, пометки, подчеркивания, исправления Вавилов делал только простым карандашом (не всегда хорошо отточенным). Чернилами (черными) сделана только одна-единственная надпись «N. Vavilov» на форзаце книги и два чернильных (фиолетовых) штампика:

экслибрис — на авантитуле и отпечаток «Н. Вавилов» — на титульном листе (плюс трижды на вводных листах книги черными чернилами написан номер 9/48). Всего на 259 страницах содержится 186 пометок (отчеркиваний и стрелок на полях, подчеркиваний текста, знаков) и 48 надписей на полях. В отношении большинства (особенно безнажимных и поблекших) записей с характерным размашистым почерком можно быть твердо уверенным, что они принадлежат Н.И. Вавилову (это подтвердил и Юрий Николаевич Вавилов). Хотя имеются отдельные мелкие карандашные пометки, слабо разборчивые, иногда между строк, написанные, может быть (или скорее всего), другой рукой (причем, иногда в виде русских эквивалентов), — это понятно, так как послевавилонские обладатели книги могли ее использовать для своих целей. Разного рода черточки, значки или стрелки также могли быть поставлены другими лицами — более поздними владельцами; не исключено, что это могли сделать и сотрудники Н.И. Вавилова, которым он мог давать ее для работы.

Среди заметок очень редко применяется «Nota bene» (стр. 58, 135). Чаще всего в таком случае употребляется «All right». Исправления, зачеркивания крайне редки. В одном случае (на стр. 189) карандашная заметка стерта ластиком, однако под нажимом улавливается «all right». Есть еще отдельные места, где поработала резинка (стр. 191). Кое-где графит за десятилетия поблек, что требует чтения под лупой (достаточно 4х).

Английский язык тогдашнего Николая Ивановича очень прост, тем не менее орфографически корректен. Иногда употреблялись сокращения типа «NS» — от «Natural Selection» («естественный отбор»), «acquir. char.» — «acquired characters» («приобретенные признаки») и т.д.

Надо сказать, что практически все надписи удалось расшифровать и воспроизвести в правильном английском написании. Только 1 страница (стр. 134) крайне трудна для понимания: на ней комбинированная длинная заметка из двух частей — на русском и английском, причем, английский текст написан с обратным наклоном (влево, а не, как всегда, — вправо), искаженным, непонятным почерком. Неразборчива также ремарка на стр. 239, однако она дает представление о почерке ученого.

На фоне приведенного описания хочется сделать заключение по существу — как бы доказательство от противного. Кто бы мог после 1944 года (из поздних русских владельцев) читать огромную английскую книгу и делать беглые, высокопрофессиональные (особенно по растениеводству) ремарки?! Так что вывод напраши-

валяется один — основные пометки делал только хозяин, обладавший книгой до 1940 года, а это не кто иной, как Вавилов. Тем не менее остается небольшая вероятность работы с книгой и другого(их) профессионала(ов), кроме Вавилова. Но в таком случае непонятно, зачем русским читателям писать заметки по-английски? Вавилова можно было понять, когда он это делал за границей, в англоязычной стране. Есть сведения, что то же самое он делал при работе с трудами Дарвина в 1914 году (сообщение Ю.Н. Вавилова). Или же последователи подражали предшественнику?

Отдавая себе отчет в истинной ценности изучаемого объекта для истории науки, авторы при работе с текстом использовали только метод закладок.

Конечно, в мемориальной статье давать полный анализ, восстанавливающий предполагаемый ход мысли Н.И. Вавилова при чтении обсуждаемой книги, вряд ли целесообразно, да и во многих случаях это просто нельзя сделать. Разве можно по черточкам или стрелкам рядом со строчками сказать что-то определенное. Да, логично утверждать, что это привлекло внимание ученого, но не более (а вдруг это сделали иные лица, в том числе более поздние хозяева книги?). Так что бесчисленные знаки на полях и мелкие пометки исключены из обсуждения.

Другое дело, распознанные ремарки, в которых четко устанавливается отношение читателя — критическое или одобрительное. Их оказалось сравнительно немного, и на них следует остановиться.

Наиболее интересное и ценное резюме Николай Иванович каллиграфически вывел на странице 212 в конце 9-й главы «Влияние измененных [внешних] условий» (сохраняется написание подлинника): «**beautiful chapter this chapter is the best compile of critics of the evidence in favour of the inheritance of acquir[ed] char[acters]**» (рис. 6). Перевод: «Великолепная глава. Эта глава — лучший обзор критики доказательства в пользу наследования приобретенных признаков». Следует отметить, что в данной главе Бэтсон подробно разбирает последние работы приверженцев идеи наследования приобретенных признаков: Семона, Ганса Лео Пржибрама, Пауля Каммерера и др. и приводит четкие аргументы против их выводов. У. Бэтсон писал в 9-й главе: «...Опыты Каммерера с разными земноводными (в частности, с жабой-повитухой и саламандрами) привлекают много внимания, но до сих пор их не удалось повторить». И впоследствии Бэтсон, наряду с Рихардом Гольдшмидтом и др., был наиболее последовательным оппонентом Каммерера. Кстати, П. Каммерер (1880—1926) был одним из стойких ламаркистов начала

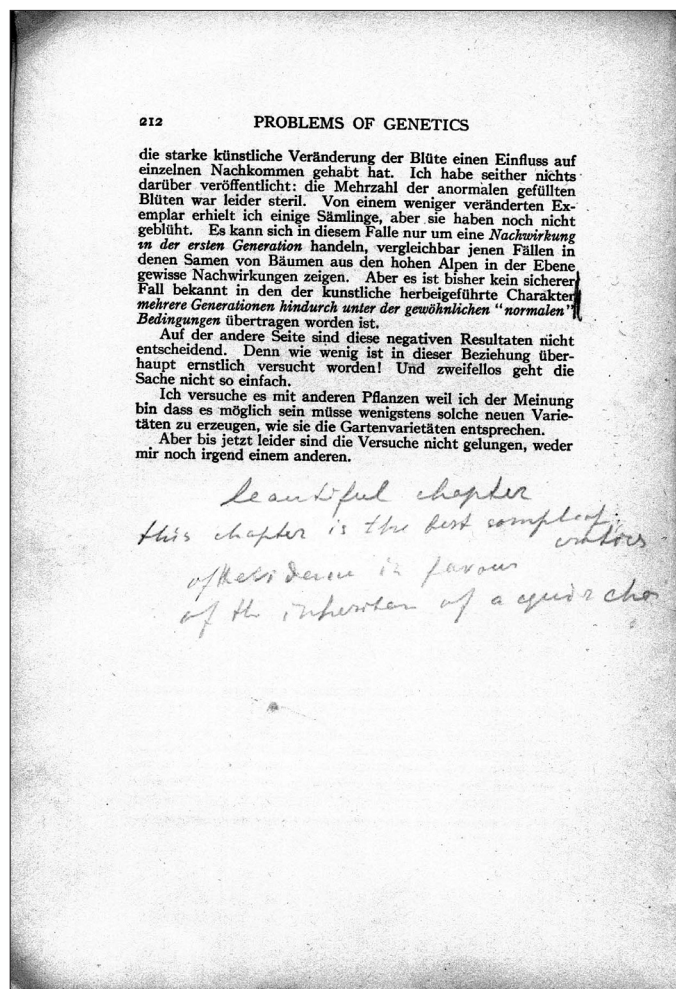


Рис. 6. Страница из книги Бэтсона с замечанием Вавилова о критике ламаркизма

XX века, но финал его деятельности оказался трагическим: уличенный в фальсификации фактов, он покончил жизнь самоубийством [28]. Как указывал в 1926 г. и сам Вавилов, эта глава послужила хорошим профилактическим средством против ухода в ламаркизм. Поэтому можно понять Николая Ивановича и его борьбу 30-х годов против сонмища ламаркистов-мичуринцев-лысенковцев, которые не то что не читали Бэтсона, а не прошли даже через простые вузовские биологические практикумы.

Следующее заслуживающее внимания замечание — на полях страницы 77 из главы 3 о сегментации. Напротив абзаца о планариях написано рукой Николая Ивановича: «**Works of Foehcting are apparently not known to author!**» — «Работы Фехтинга, по-видимому, не известны автору». Речь идет о немецком ботанике Фехтинге, занимавшемся вегетативным размножением растений. Ясно, что молодой растениевод и агроном здесь демонстрирует свои знания (рис. 7).



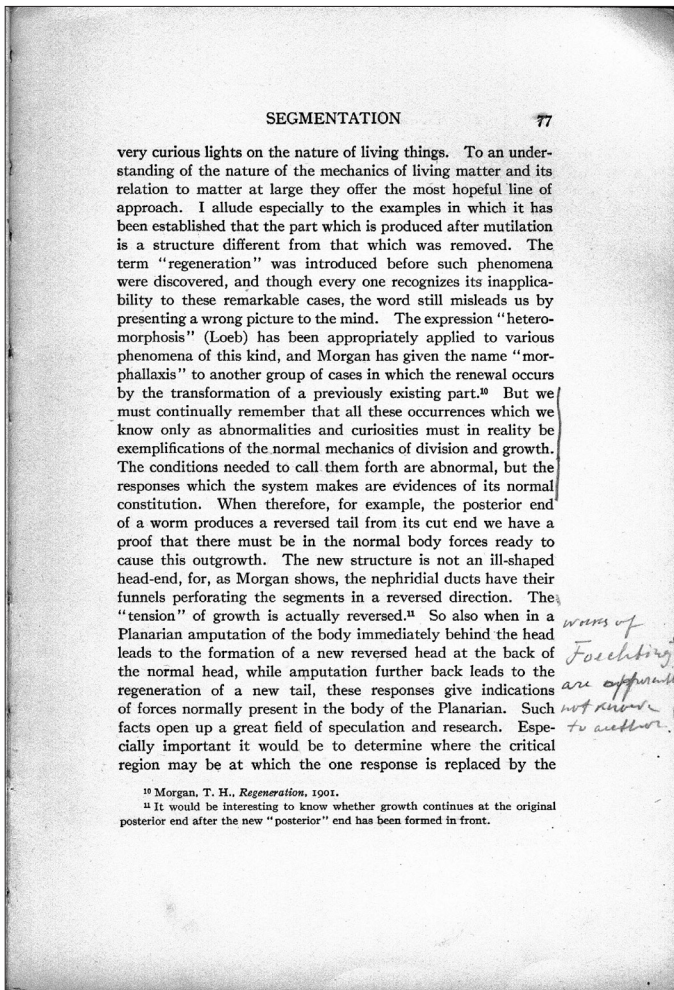


Рис. 7. Реплика Н.И. Вавилова на полях бэтсоновской книги по поводу работы немецкого ботаника Фехтинга

На странице 29 (вводная первая глава «Проблемы вида и разновидностей») Вавилов отмечает для себя на полях: «**The role of Natural Selection**» («Роль естественного отбора») (рис. 8). В напечатанном абзаце напротив Бэтсон приводит обобщающую фразу по данному вопросу.

На странице 92 молодого ученого заинтересовали данные о китайской примуле (первоцвете) *Primula sinensis*, и он в этой связи делает пометку: «**appearance of dominant characters in evolution of Primula**» («появление доминантных признаков в эволюции *Primula*») (рис. 9).

На странице 16 из вводной главы Вавилов реагирует фразой: «**but may be independent!**» («но может быть независимым») на высказывание Бэтсона: «I find it impossible to believe that the fixity of these distinctions is directly dependent on their value as aids in the struggle for existence» («Я считаю невозможным полагать, что закрепление этих различий непосредственно зависит

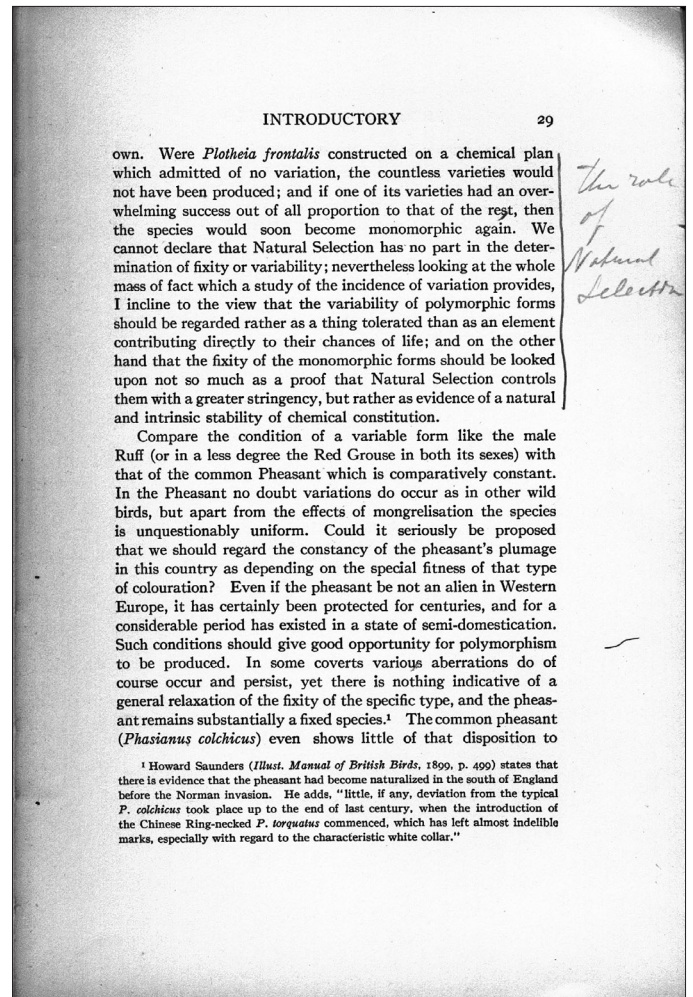


Рис. 8. Пометка о роли естественного отбора

от их ценности в плане помощи в борьбе за существование»).

На странице 21 также из вводной главы он делает ремарку: «**select[ion] principle as factor of variation**» («принцип отбора как фактор изменчивости») (рис. 10).

Интересна заметка на странице 129 (рис. 11). Здесь Вавилов делает для себя выписку о ведущих признаках при сравнении двух видов улиток: *Helix nemoralis* (древесная улитка) и *Helix hortensis* (садовая улитка):

« <b>nemoralis</b>	<b>hortensis</b>
<b>large</b>	<b>small</b>
<b>shiny</b>	<b>dull</b>
<b>peristoma brown</b>	<b>peristoma white»</b>

Перевод

«[Н.] <i>nemoralis</i>	[Н.] <i>hortensis</i>
крупная,	мелкая
блестящая	серая
перистома коричневая	перистома светлая»



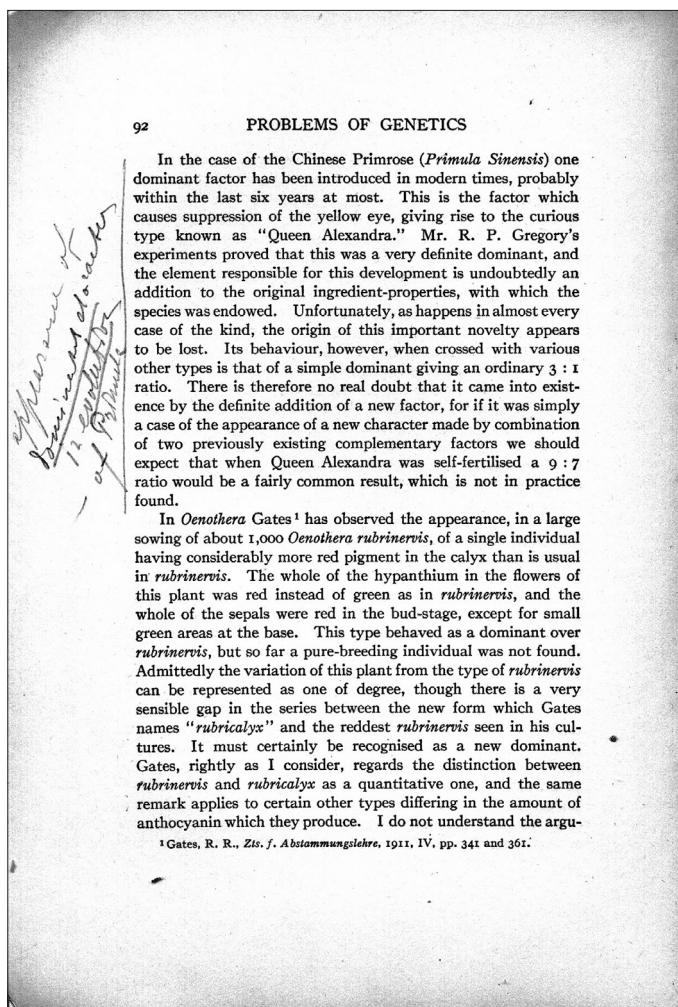


Рис. 9. Реплика о появлении доминантных признаков у китайской примулы

анализом указанного наследования. Затем она перешла в биохимическую группу Бристольского университета. Бэтсон сожалел об этом, однако высоко ценил ее вклад в становление генетики. Так что в контексте изложения ее исследования Бэтсон, скорее всего, корректно представил суть опытов М. Онслоу.

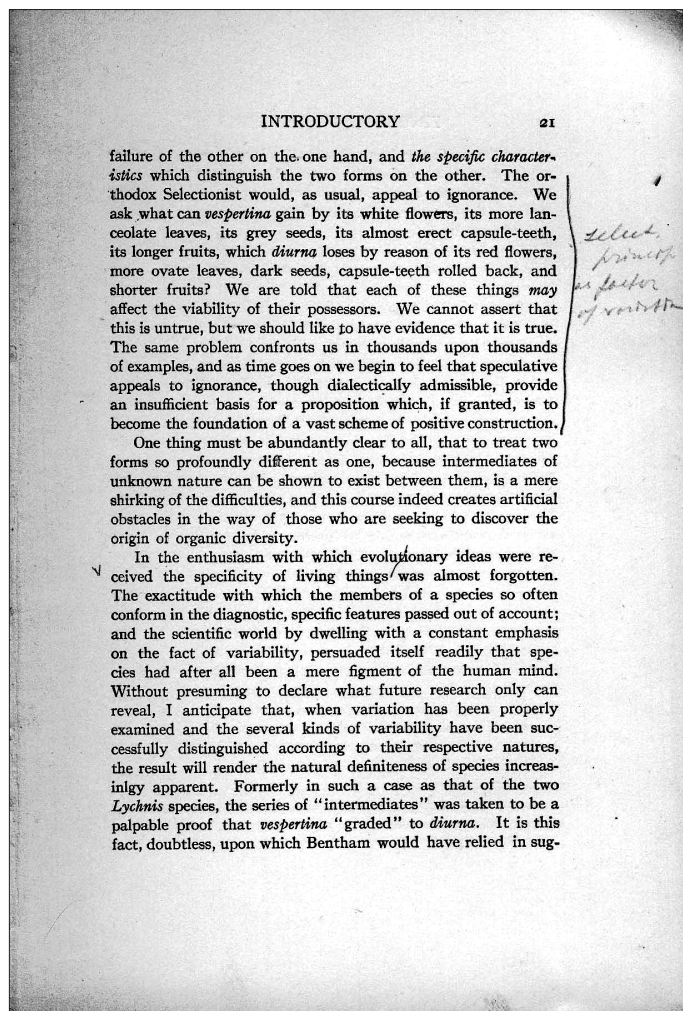


Рис. 10. Пометка о принципе отбора как факторе изменчивости

Известно, что Николай Иванович выполнил в 1910 году дипломную работу об улитках (голых слизнях) Московской губернии. Поэтому понятно его внимание к этой теме.

Из работы Вавилова над страницами бэтсоновской книги складывается впечатление, что у начинающего исследователя было естественное постоянное желание критически осмыслить текст и выявить возможную смысловую или иную ошибку, вплоть до опечаток. Как правило, его заметки логичны, доказательны и однозначны. Но в одном случае (стр. 83) его заметка на полях «presence» вместо напечатанного «absence», возможно, необоснованна. Речь идет об описании английским ученым экспериментов своей ученицы Мисс Муриэль Онслоу (Muriel Wheldale Onslow, 1880–1932), одного из первых биохимиков растений, которая занималась проблемой наследования пигментов цветков (антоцианинов) у львиного зева *Antirrhinum*. В 1907 г. она опубликовала основательную работу с полным факторным

В таком духе можно и далее проследовать по страницам книги Бэтсона и комментировать отношение молодого русского ученого к мыслям классика генетики. Однако рамки статьи ограничены и многие аспекты могут быть освещены в последующих исследованиях.

Наверное, после приведения факсимиле цитат Н.И. Вавилова уместно дать достоверные примеры его почерка (подлинные автографы) на русском и английском языках, взятые из проверенных источников (рис. 12) [6].

Следует сказать несколько слов о предполагаемых владельцах книги после настоящего хозяина. Первым по времени стоит имя А. Яхонтова, который написал



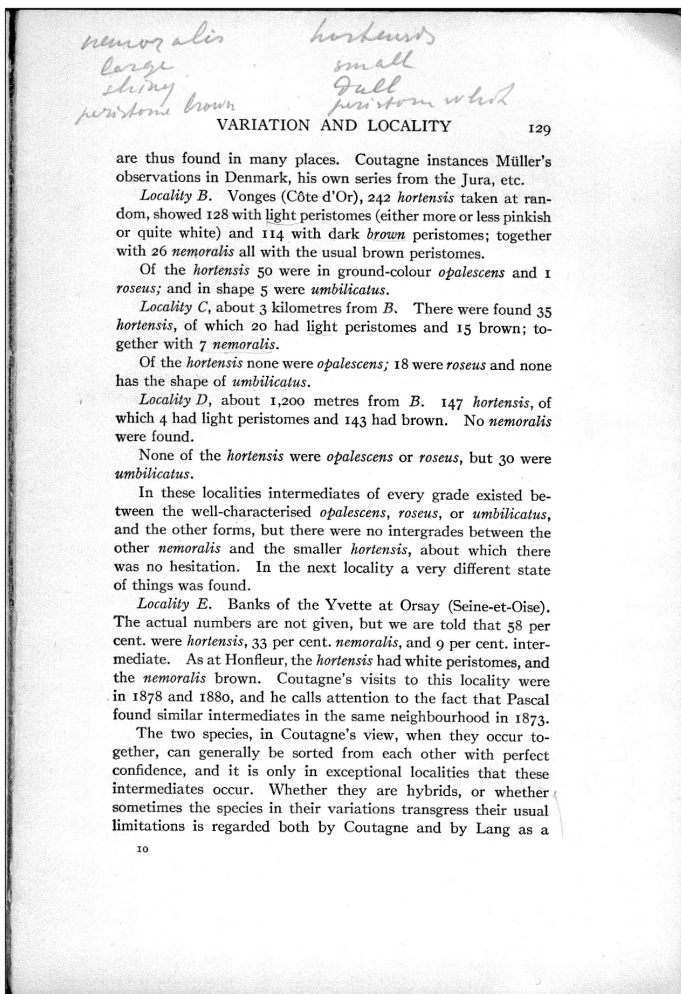


Рис. 11. Выписка о бэтсоновском сравнении двух видов улиток

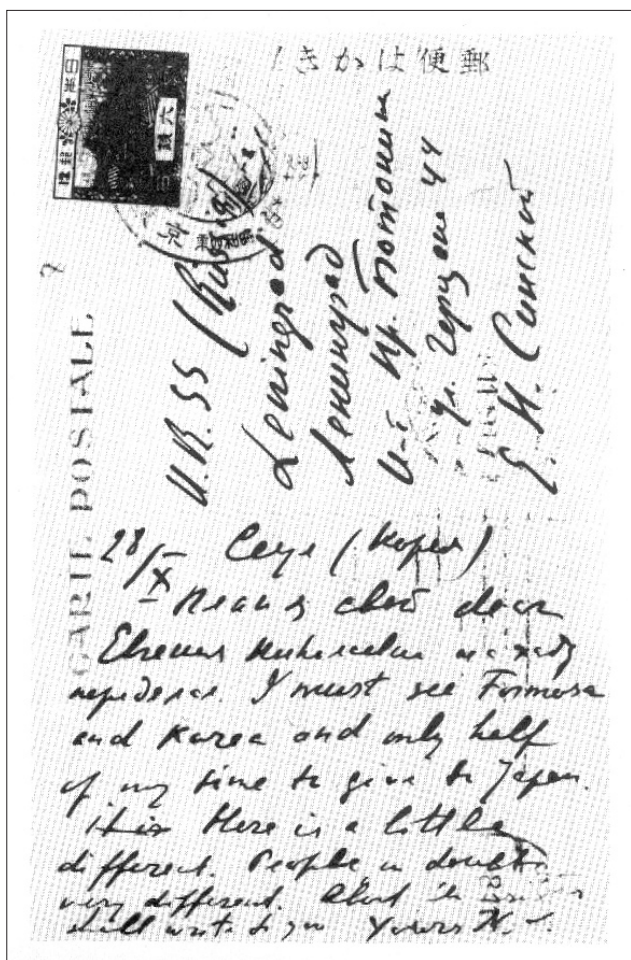
его кириллицей рядом с надписью по-английски «N. Vavilov.», при этом обозначив дату: 8 мая 1944 г., то есть через год после смерти Вавилова (рис. 13). Приводим для сравнения образцы подписи Вавилова на английском языке, переснятые с официальных документов (рис. 14) [6].

Кто же этот «смелый» человек, который не побоялся поставить свою фамилию в качестве владельческой подписи после имени гениального ученого? В качестве возможного варианта правомерна версия Александра Александровича Яхонтова (1879–1974), педагога, автора учебников по зоологии, члена-корреспондента АПН РСФСР (с 1946 г.), который длительное время работал в структуре этой академии и умер в 1974 г. после тяжелой болезни в 95-летнем возрасте (<http://museum.edu.ru>). Хотя, будучи специалистом-биологом и при этом, по-видимому, не испытывая благоговейного трепета перед реликвией (о чем свидетельствует его автограф рядом с именем первого обладателя книги), он все-таки мог поработать с карандашом над текстом, чем в немалой

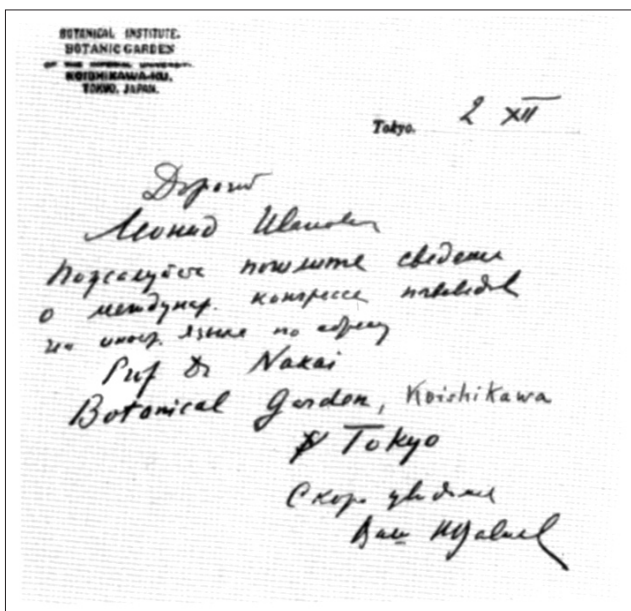
степени мог затушевывать истинную картину общения Вавилова с бэтсоновскими высказываниями (хотя разница в почерках очевидна, к тому же разнятся и смыслы заметок, размер и стилистика знаков). С книгой он расстался, вероятно, гораздо раньше 1974 г. (сообщения о его болезни появлялись в 1968 г. — <http://oglibrary.ru/data/demo>), поскольку к этому времени уже стояли два штампа книжных магазинов, а третья надпись появилась в январе 1974 г. Так что книгой владели, кроме, возможно, А.А. Яхонтова, еще, по крайней мере, 2–3 неизвестных «хозяина», пока ее обладателем не стал один из авторов статьи. Интересно, что на одном из штампов стоит сумма 25 руб., что может свидетельствовать о приеме на продажу до 1961 года: две последующие суммы — по 5 руб. (напомним: денежная реформа 1961 г. — 10:1).

Эта история, очевидно, говорит о том, что книга давно уже должна занять подобающее ей место в соответствующем музее, и это авторы статьи намереваются сделать в недалеком будущем. Не исключено, что вавиловеды найдут в ней еще много интересного, и она займет свое место в вавиловiane.

Кстати, отдельной исторической темой может стать вопрос о том, как любимая книга Вавилова через год после его смерти попала к А. Яхонтову? Известно [11, 13], что после ареста ученого в 1940 г. его домашняя библиотека оставалась всю блокаду в ленинградской квартире по адресу: ул. Гоголя — ныне Малая Морская — д. 2, кв. 13 (угол улицы Гоголя и Невского проспекта, 11) и чудом уцелела от разграбления и использования для топки печей. В 1944 г. после снятия блокады библиотека из квартиры Н.И. Вавилова была перемещена в здание Географического общества на пер. Гривцова, 10 (сама же квартира была передана балерине Н.М. Дудинской, хотя истинные владельцы — жена и сын Николая Ивановича находились в Саратове). В 1945 г. вдова ученого Е.И. Барулина с сыном вернулись в Ленинград и перевезли библиотеку в квартиру на Васильевском острове. Есть сведения, что после войны Елена Ивановна Барулина, находясь в стесненном материальном положении, продала часть библиотеки, в том числе Ботаническому саду и Ботаническому институту АН СССР (свидетельство Ю.Н. Вавилова). Но все это произошло после 1944 года. Так что вряд ли книга появилась у А. Яхонтова из фондов домашней библиотеки Вавилова (а вдруг она могла быть похищена из квартиры во время блокады?). Остается только предполагать о других каналах: может быть, книга Бэтсона осталась в директорских кабинетах ВИРа и Института генетики или же в московской квартире на ул. Чкалова?



А



Б

Рис. 12. Примеры почерка Н.И. Вавилова на русском и английском языках.

- А — письмо Е.Н. Синской от 28 октября 1929 г. (АРАН, ф. 1014, оп. 3, д. 58, л. 8);
- Б — письмо Л.И. Прасолову от 2 декабря 1929 г. (АРАН, ф. 687, оп. 4, д. 189, л. 2) [6]

О многом может также поведать и пока загадочный номер 9/48 в каталоге библиотеки Н.И. Вавилова. Хотя первые предварительные изыскания авторов в данном направлении показали, что Николай Иванович шифровал книги своей библиотеки так: 9/№ книги.

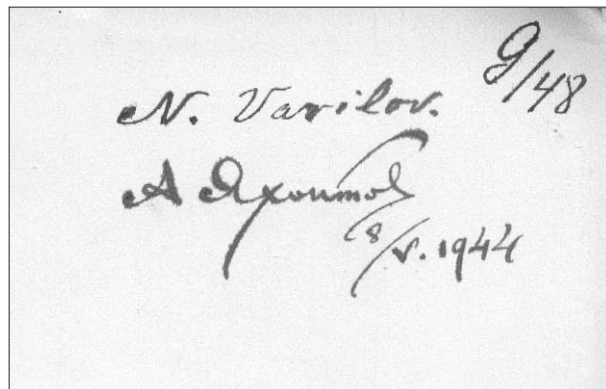


Рис. 13. Автографы двух владельцев книги: сверху — Н.И. Вавилова, внизу — А. Яхонтова (сделаны на форзаце)

Так, например, нами был изучен оттиск с его статьями «Закономерности в изменчивости растений» и «Организация и результаты работ отдела прикладной ботаники и селекции Госуд[арственного] Инстит[ута] Опыт[ной] Агр[ономии]» из сборника «Селекция и семеноводство в 1923 г.», М., Изд-во «Новая деревня», 1924, с. 13–30.

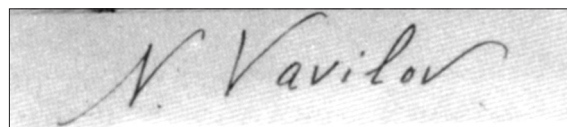
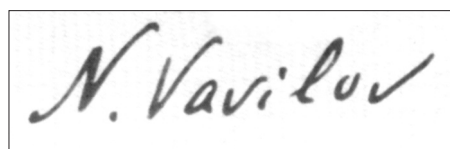


Рис. 14. Образцы подписи Н.И. Вавилова на английском языке [6]

Этот оттиск сейчас хранится в Центральной научной библиотеке Московской сельскохозяйственной академии имени К.А. Тимирязева под библиотечным шифром 123925-1.

Он является личным даром Н.И. Вавилова в библиотеку МСХА, о чем свидетельствует соответствующий чернильный штамп «Дар библиотеке МСХА» и написанный вавиловской рукой шифр его персональ-



ной библиотеки — 9/2242. Таким образом, за период 1913–1924 гг. в библиотеке ученого прибавилось более 2000 книг (как упоминалось выше, бэтсоновская книга имеет шифр 9/48, то есть 48-й номер).

А, может быть, книга английского классика генетики заслуживает и полного (или частичного) сканирования и помещения на сайт под рубрикой «Вавилов за чтением Бэтсона»?

Авторы благодарят Юрия Николаевича Вавилова за ценные замечания, советы, дружеское участие и совместный анализ фактов, а главное — за приобщение к грандиозной, неисчерпаемой вавиловской теме.

## Литература

1. *Бальдыш Г.М., Панизовская Г.И.* Николай Вавилов в Петербурге — Петрограде — Ленинграде. — Л.: Лениздат, 1987. — 288 с.
2. *Бардадым В.* Николай Иванович Вавилов / В кн.: Виталий Бардадым. Радетели земли Кубанской. — Краснодар: Сов. Кубань, 1998. — С. 7–15.
3. *Бахтеев Ф.Х.* Николай Иванович Вавилов: 1887–1943. — Новосибирск: Наука. Сиб. отделение, 1988. — 271 с.
4. *Бережной П.П., Удачин Р.А.* На костре. Книга об академике Николае Вавиллове. — М.: Книжное издательство «Барс», 2001. — 264 с.
5. *Вавилов Н.И.* Вильям Бэтсон (W. Bateson). 1861–1926. Памяти учителя // Труды по прикладной ботанике и селекции. — 1925 [1926]. — № 5. — С. 499–511 (переиздание в кн.: Вавилов Н.И. Жизнь коротка, надо спешить. — М.: Сов. Россия, 1990. — С. 148–169).
6. *Вавилов Н.И.* Документы и фотографии. — СПб.: Наука. — 168 с.
7. *Вавилов Н.И.* Избранные труды в 5 томах. — М.—Л.: Наука, 1959–1965.
8. *Вавилов Н.И.* Иммуитет растений к инфекционным заболеваниям. — М.: Наука, 1986. — 519 с.
9. *Вавилов Н.И.* Происхождение и география культурных растений / АН СССР. Сост. А.А. Филстенко. Отв. ред. В.Ф. Дорофеев. — Л.: Наука, 1987. — 439 с.
10. *Вавилов Н.И.* Пять континентов / Отв. ред. Л.Е. Родин. — Л.: Наука, 1987. — 213 с.
11. *Вавилов Ю.Н.* В долгом поиске. Книга о братьях Николае и Сергее Вавиловых. — М., 2004.
12. *Вавилов Ю.Н., Рокитянский Я.Г.* Знания, брошенные в огонь. Несколько новых страниц из жизни академика Н.И. Вавилова // Вестн. РАН. — 1996. — Т. 66. — № 7. — С. 625–635.
13. *Вишнякова М.А.* «Милая и прекрасная Леночка...». Елена Барулина — жена и соратница Николая Вавилова. — СПб., 2007. — 152 с.
14. *Воробьев В.С.* Братья Вавиловы — титаны XX века // Медицинская газета. — 2004. 23 июля. — № 47. — С. 15.
15. *Воробьева О.В., Воробьев В.С.* Здесь, в Императорском коммерческом училище Москвы, учились естествоиспытатели братья Николай и Сергей Вавиловы // Тимирязевка. — 2007. — № 3–5, февраль-март. — С. 3.
16. *Зигуненко С.Н., Малов В.И.* Н.И. Вавилов: Кн. для учащихся 9–10 кл. сред. шк. — М.: Просвещение, 1987. — 128 с.
17. *Знаменательные и юбилейные даты истории медицины 1997 года.* — М.: Эпидавр, 1997. — С. 104–105 (статья о Н.И. Вавиллове).
18. *Лобацкая Т.Е.* Уильям Бэтсон: у истоков генетики // Вестн. РАН. — 2003. — Т. 73. — № 9. — С. 830–837.
19. *Лобацкая Т.Е.* У. Бэтсон и его вклад в становление и развитие генетики / Автореф. дисс. доктора биол. наук. — М., 2007. — 43 с.
20. *Н.И. Вавилов — историк генетики (по материалам науч. и эпистолярного наследия).* Переписка с У. Бэтсоном / Публ. Е.С. Левиной // Вопр. истории естествознания и техники. — 1987. — № 4. — С. 34–44.
21. *Николай Иванович Вавилов: Научное наследие в письмах (международная переписка). Т. 1.* — М.: Наука, 1994. — 556 с.
22. *Резник С.Е.* Николай Вавилов. — М.: Молодая гвардия, 1968. — 336 с. (ЖЗЛ).
23. *Рядом с Вавиловым: Сб. воспоминаний. 2-е изд., доп.* / Ю.Н. Вавилов. — М.: Сов. Россия, 1973. — 252 с.
24. *Увековечение памяти братьев Вавиловых // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова.* — 2006. — Т. 2. — № 1. — С. 81–82 (материал подготовлен О.В. Воробьевой).
25. *Шайкин В.Г.* Николай Вавилов. — М.: Молодая гвардия, 2006. — 255 с. (ЖЗЛ).
26. *Bateson W.* // Nature. — 1925, 7 Nov. — P. 851.
27. *Bateson W.* Problems of genetics. — New Haven: Yale Univ. Press; London: Humphrey Milford, Oxford Univ. Press, 1913. — 259 p.
28. *Koestler A.* The case of the midwife toad. — New York: Vintage Books, 1971.

Интернет-источники:

- <http://www.wikipedia.org>  
[www.muzei-vavilov.ru](http://www.muzei-vavilov.ru)  
<http://www.vir.nw.ru/history/vavilov.htm>  
[http://www.en.wikipedia.org/wiki/vavilovian\\_mimicry](http://www.en.wikipedia.org/wiki/vavilovian_mimicry)  
<http://www.thebatesons.com>  
<http://museum.edu.ru>  
<http://oglibrary.ru/data/demo>  
<http://vak.ed.gov.ru/common/img/uploaded/files/vak/announcements/biolog/LibatskayaTE.rtf>

**Резюме.** Авторы обнаружили в своей семейной библиотеке антикварную книгу, принадлежащую Николаю Вавилову. Это книга Уильяма Бэтсона «Проблемы генетики» (1913). Н. Вавилов работал в лаборатории Бэтсона в 1913–1914 гг. в качестве стажера и, возможно, купил эту книгу во время своего пребывания в Великобритании. Молодой русский стажер сделал ряд интересных заметок на полях фундаментального руководства своего знаменитого учителя. Авторы комментируют эти заметки и обсуждают проблему букинистической «одиссеи» данного раритета после трагической гибели великого русского генетика в 1943 году.

*Ключевые слова:* история науки, генетика, Уильям Бэтсон, Николай Вавилов.

**VAVILOV AND BATESON: PUPIL AND TEACHER –  
NEW HISTORICAL GODSENDS.  
TO 120<sup>TH</sup> ANNIVERSARY FROM N.I. VAVILOV'S BIRTHDAY**

V.S. VOROBYEV, O.V. VOROBYEVA

*Ovchinnikov Society of Biotechnologists of Russia, Moscow*

The authors found among books of their family library an antiquarian one belonged to Nikolay Vavilov. It was William Bateson's book «The problems of genetics» (1913). N. Vavilov worked in Bateson's laboratory in 1913–1914 as a postgraduate student and bought this book during his staying in Great Britain, presumably. The young Russian probationer marked some interesting marginal notes on pages of the fundamental handbook of his famous teacher. The authors gave commentaries to these notes and discussed a problem of second-hand bookshop «Odyssey» of this rarity after tragic death of the great Russian geneticist in 1943.

*Keywords:* history of science, genetics, William Bateson, Nikolay Vavilov.



## ЕЩЕ РАЗ ОБ ОТЦЕ: ФАКТЫ ИЗ СЕМЕЙНОГО АРХИВА. НИКОЛАЙ ВАВИЛОВ ЗА ЧТЕНИЕМ ДАРВИНА

Ю.Н. ВАВИЛОВ\*

*Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, Москва*

За многие годы мне выпала судьба извлечь из разных источников сведения, отвечающие грани личности моего отца. В числе прочего в семейных архивных материалах Н.И. Вавилова мне удалось обнаружить его записи, сделанные во время стажировки у У. Бэтсона в Великобритании в 1913–1914 гг. Речь идет о его комментариях к книге Чарльза Дарвина «The variation of animals and plants under domestication (popular edition), London, 1905» — «Изменчивость животных и растений под влиянием одомашнивания (популярное издание), Лондон, 1905» [18].

Вначале мне хотелось бы воспроизвести этот документ в оригинале (с сохранением его точного написания) с переводом (поскольку Н.И. Вавилов часть замечаний делал на английском языке), а уже затем провести краткое обсуждение данной темы в контексте его отношения к великому английскому ученому.

### «16.4. Лондон, 1914.

**This book is full of informations and many of them are of interest even at the present time. Especially are interesting the chapters in I vol., devoted to the origin of separate groups. The chapters on pigeon and ... are very interesting even now.**

**But very many data are old, are based on very bad observations. In general the book is very far from being classical; very many statements are quite wrong from the point of our present knowledge.**

**More defects are in general chapters in II volume.**

**In the I vol. besides special chapters is very interesting the XI on ... variations. The II vol. is full of doubtful data.**

**The title of work is a little strange from the present point of view. There is not too much here about «variation». In variation Darwin had very little knowledge. The word variation is mixed with «selection». And the book is full of data about signification of selection. And this point is sufficiently discussed.**

**In general the great defect is the exaggeration of the role of selection.**

.....  
**The plant were different from their nature perhaps on account of natural crossing. And now payed attention to these variations. The turn [is] — *зачеркнуто!* — also was quite opposite.**

**The role of crossing in origin of cultivated forms in general was not sufficiently approved by Darwin. What we know now [was] — *зачеркнуто!* — says quite different.**

**The investigation in this respect of our cultivated animals and plants will open quite new horizon in the understanding of the origin of organisms.**

**In the result of reading of this book it is clear how much it is necessary to do in future. It is done little.**

**The separate notices from each chapter are written in № 1 Материалы.**

**При обработке о происхождении понадобится перечитка отд.[ельных] глав I тома и литература, указанная в них.**

**Ценность этой работы и в том, что она представляет колоссальную сводку наблюдений и знаний. К сожалению масса наблюдений проведена с н.т.з. [научной точки зрения] не научно и должна быть повторена.**

**Хотя эти 2 книги и посвящены динамической стороне происхождения — динамика в конце концов почти не тронута.**

**Флуктуации смешаны с генотипическими отклонениями.**

\* Автор для переписки:

© 2007 г. Вавилов Юрий Николаевич, д.ф.-м.н.,  
сотрудник Физического института им. П.Н. Лебедева РАН,  
119991 ГСП-1 Москва, Ленинский пр.-т, 53

**Происхождение последних приписано влиянию среды, в малой дозе мутациям и скрещиваниям, в особенности у наследственно приобретенных признаков. Все это конечно не так, исходя из соврем.[енных] знаний.**

**Интересна глава о стерильности гибридов — 191—218 (II vol.), аналогичной вариации — 417—426 (III vol.), с истор.[ической] точки зр[ения] взгляды Дарвина на роль скрещив.[ания] — р. 311 (II v.).**

**Встречаются места, противоречащие друг другу и роли отдельных факторов в происхожд.[ении] орг.[анизмов]. В общем роли селекции приписывается много больше, чем пассивный отбор».**

*Перевод английского текста.* «Эта книга полна информации и большинство ее интересно даже в настоящее время. Особенно интересны главы в I томе, посвященные происхождению отдельных групп. Главы о голубе и ... очень интересны даже сейчас.

Однако очень многие данные устарели, основаны на слабых (недоказательных) исследованиях. В целом книга далека от того, чтобы быть классикой; очень много положений неправильно и сильно отличаются от наших современных знаний.

Много дефектов в общих главах II тома.

В I томе кроме специальных глав очень интересна XI о ... изменениях.

II том полон сомнительных данных.

Заглавие работы несколько странно с современной точки зрения. Здесь немного сведений об «изменчивости». Об изменчивости у Дарвина очень мало информации. Слово изменчивость смешивается с «отбором». Книга полна также данных о значении отбора. И эта точка зрения достаточно дискуссионна.

В общем большой недостаток состоит в преувеличении роли отбора.

.....

Растения отличаются от своего типа, возможно, из-за естественного скрещивания. Сейчас этим вариациям уделяется внимание. Виток был также совершенно противоположным.

Роль скрещивания в происхождении культурных форм в целом не была достаточно доказана Дарвиным. То, что мы знаем сейчас, говорит совсем о другом.

Исследование в этом отношении наших домашних животных и растений действительно откроет новые горизонты в понимании происхождения организмов.

В результате прочтения этой книги стало ясно, как много нужно сделать в будущем. Пока сделано мало.

Отдельные заметки из каждой главы написаны в № 1 Материалы».

Из представленного материала видно, как тщательно пытался молодой российский стажер (Вавилов в 1913—1914 гг. находился в научной командировке в институте У. Бэтсона в Англии) найти у классика ответы на вопросы, которые уже поставила наука XX века. Но увы — даже гений предыдущего столетия был бессилён: у каждого времени свои методические возможности. Поэтому основной вывод из чтения Дарвина — впереди огромная работа и, надо полагать, молодой Вавилов уже позиционировал себя в рядах этих тружеников. По этой дороге он и пришел впоследствии к обнаружению закона гомологических рядов и другим выдающимся открытиям.

Собственно говоря, заметки Николая Ивановича напоминают страницы из его студенческого дневника [13, 17]. В нем также прослеживается четкая установка на будущее, угадываются наметки будущих программ действий. Это и есть проявления таланта экстраординарного ученого.

Что еще привлекает внимание? Сами по себе записи и пометки, сделанные Вавиловым при работе с подлинными книгами и рукописями Дарвина, трудно объединить в какую-то логическую конструкцию. Главное — не критика или замечания, а то, что молодой ученый глубоко проработал тексты классика в подлиннике. Не в пересказах известных или средних толкователей его учения, а в оригинале!

Надо отметить, что к дарвиновской теме мой отец за свою жизнь обращался не раз. Излишне говорить о том, что учение Дарвина, его эволюционные взгляды, величие личности были глубинной основой творческой сущности самого Николая Ивановича. Впрочем, эта проблема специалистами часто затрагивается; поэтому углубляться в нее в данной статье не следует. Однако на некоторых аспектах я остановлюсь.

Облегчает задачу то, что есть определенные публичные события, в которых два имени — Дарвина и Вавилова — объединялись. 12 февраля 1909 г. студент III курса Московского сельскохозяйственного института Н.И. Вавилов выступил на заседании совета, посвященного 100-летию со дня рождения Ч. Дарвина, с докладом «Дарвинизм и экспериментальная морфология». На этом же заседании выступили с юбилейными докладами профессора Н.М. Кулагин и Д.Л. Рудзинский [1]. Жаль, что текст указанного доклада Николая Ивановича не сохранился.

Еще раньше в своем студенческом дневнике он обращался к имени Дарвина. Вот что он записал в нем 9 января 1908 г., комментируя точку зрения Канта: «Но

вот 70 лет спустя этот невозможный Ньютон действительно явился в лице Дарвина, а его теория естественного подбора на самом деле разъяснила загадку, которую Кант считал неразрешимой» [13].

В расцвете своей деятельности Н.И. Вавилов сделал два доклада 19 и 21 апреля 1932 г. на торжественных заседаниях АН СССР, Комакадемии и ВАСХНИЛ в Москве и Ленинграде, в Таврическом дворце, посвященных 50-летию со дня смерти Ч. Дарвина (рис. 1): «Дарвин и его значение в истории биологических наук», «Дарвин и его роль в развитии биологических наук».



Рис.1. Выступление Н.И. Вавилова в Таврическом дворце с докладом о роли Дарвина в развитии биологических наук. Ленинград, апрель 1932 г.

смысле — ныне основа всей биологии. Без Дарвина нельзя представить себе современной биологии» [6].

Н.И. Вавилов принимал участие в выпуске трудов Дарвина. Так, например, он был редактором издания перевода книги «Происхождение видов» (1935). При этом он обращался к оригинальному тексту классика, сверял и правил перевод, написал, как указывалось выше, предисловие. Вот как выглядит титульный лист выпущенной в свет книги: «Перевод К.А. Тимирязева с исправлениями и указателями под общей редакцией академика Н.И. Вавилова. Вводные статьи академиков Н.И. Бухарина и Н.И. Вавилова. Сельхозгиз. Москва, Ленинград, 1935» [16]. Тираж быстро разошелся. Встал вопрос о повторном переиздании. Н.И. Вавилов вместе с

Материалы докладов были опубликованы в 1932 и 1935 гг. [6, 7, 8] и впоследствии переизданы [3, 5]. Выступал здесь и Н.И. Бухарин. Вместе с последним они написали вводные статьи к переизданию книги Ч. Дарвина «Происхождение видов» в 1935 г. [8]. В будущем это сказалось на ходе следственного дела, где связь с Бухариным ставилась в вину Николаю Ивановичу (они, между прочим, однажды были вместе в зарубежной командировке).

В своей мемориальной речи 1932 г. Н.И. Вавилов сказал: «... Учение Дарвина — дарвинизм в широком

квалифицированными помощниками проделал большую редакционную работу по сверке с оригиналом, написал предисловие. Однако когда книга была опубликована в 1937 г., то это предисловие было изъято (равно как и две вступительные статьи Николая Ивановича и статья Н.И. Бухарина). Книга была напечатана тиражом 30000. Она была отредактирована Н.И. Вавиловым и В.Л. Комаровым и вышла в свет под общей редакцией В.Л. Комарова (тогдашнего президента АН СССР, известного ботаника) с его же вступительной статьей [2, 10, 16]. В последней, кроме анализа деятельности Дарвина, была воздана хвала талантливому агроному Т.Д. Лысенко и отмечена роль Н.И. Вавилова в издании книги как переводчика. Причины столь резких действий



объяснялись просто. На дворе стоял 1937 год, через год будет организован показательный судебный процесс над правотроцкистами, на котором Н.И. Бухарин в числе других будет приговорен к расстрелу. Возникли проблемы и у Н.И. Вавилова в связи с решительной поддержкой И.В. Сталиным линии Т.Д. Лысенко в отношении развития сельского хозяйства.

В письме А.Е. Ферсману [2, 14], отчитываясь о работе в АН СССР за 1937 год, а также в письме к Т.А. Красносельской-Максимовой от 23 сентября 1937 г. [14] Николай Иванович упоминает о своем редактировании нового перевода книги Ч. Дарвина «Значение перекрестного опыления и самоопыления в растительном царстве» (совместно с Рыбиным). Мне не известна судьба этого текста, но в любом случае — это лишнее свидетельство того, какое большое место в жизненном пространстве отца занимал выдающийся английский исследователь.

По свидетельству С.П. Зыбиной [12] и других сотрудников, близко общавшихся с Николаем Ивановичем, дарвиновская тема многократно обсуждалась в 20–30-е годы на конференциях и семинарах. Причем, чаще всего дискуссии возникали в отношении проблемы наследственной изменчивости и связи взглядов Дарвина с законом гомологических рядов. Нельзя сказать, что было полное единодушие: нередко возникала горячая полемика, которую Николай Иванович старался направить в созидательное русло на познание истины и сохранение творческой, товарищеской обстановки в коллективе.

28 ноября 1939 г. Н.И. Вавилов выступил в Академии наук СССР на Дарвиновской сессии с докладом «Учение о происхождении культурных растений после Дарвина». Он был напечатан в журнале «Советская наука» в 1940 году, то есть фактически это была одна из последних его работ, как бы научное завещание [9], и опять мы видим здесь имя Дарвина.

И, конечно, немаловажна идея бессмертия верного научного знания, посмертное взаимодействие имен Чарльза Дарвина и Николая Вавилова. Они оба были в свое время помещены рядом на обложке Международного журнала генетики «Heredity» [2, 15], причем абсолютное соседство с Дарвиным разделяется только одним именем Моргана, но зато это компенсируется расположением непосредственно рядом с Линнеем (рис. 2). Да, по-видимому, ничего не бывает в жизни случайного. Ведь в бытность молодым человеком во время своей научной поездки в Англию отцу выпала честь трогать своими руками колосья, собранные К. Линнеем, и перелистывать страницы книг, принадлежавших лично Ч. Дарвину. Да и с остальными учеными,

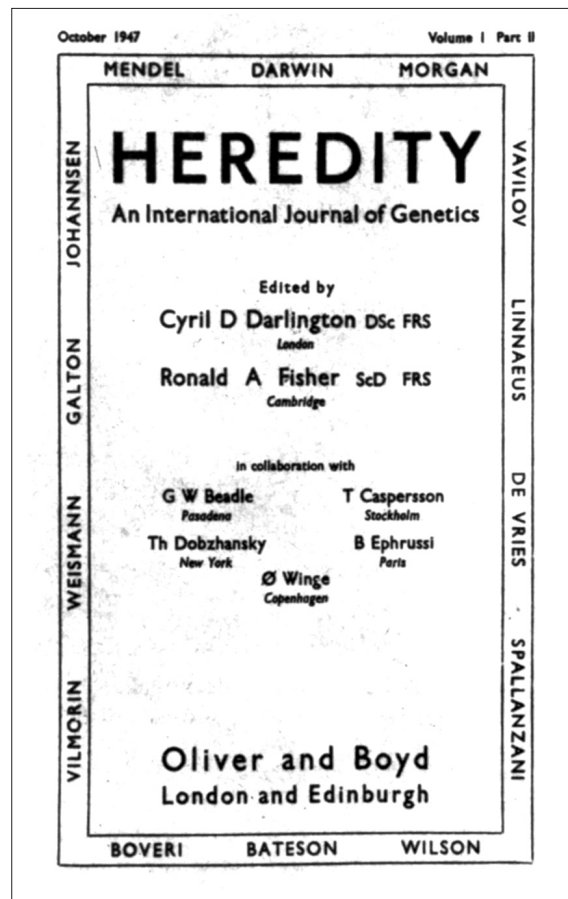


Рис. 2. Обложка журнала «Heredity» (Oct. 1947)

имена которых также приведены на обложке (три из 11), Николай Иванович общался уже лично (Бэтсон, Морган, Де Фриз).

## Литература

1. Бахтеев Ф.Х. Николай Иванович Вавилов: 1887–1943. — Новосибирск: Наука. Сиб. отделение, 1988. — С. 37.
2. Вавилов Н.И. Документы и фотографии. — СПб.: Наука, 1995. — 168 с.
3. Вавилов Н.И. Роль Дарвина в развитии биологических наук / В кн.: Вавилов Н.И. Жизнь коротка, надо спешить. — М.: Сов. Россия, 1990. — С. 169–173 (переиздание статьи 1932 г.).
4. Вавилов Н.И. Роль Дарвина в развитии биологических наук / В кн.: Дарвин Ч. Происхождение видов / Пер. К.А. Тимирязева. — М.—Л.: Сельхозгиз, 1935. — С. 33–46.
5. Вавилов Н.И. Роль Дарвина в развитии биологических наук (К 50-летию со дня смерти Дарвина) / В кн.: Вавилов Н.И. Избранные труды. — Т. 5. — М.—Л.: Наука, 1965. — С. 253–261.
6. Вавилов Н.И. Роль Дарвина в развитии биологических наук (К 50-летию со дня смерти Дарвина) [Речь на торжеств. заседании, посвящ. памяти Ч. Дарвина, орга-



- низованном АН СССР, Комакадемией и ВАСХНИЛ в Москве и Ленинграде 19 и 21 апр. 1932 г.] // Природа. – 1932. – № 6–7. – С. 511–526.
7. Вавилов Н.И. Роль Дарвина в развитии биологических наук / Учение Дарвина и марксизм-ленинизм. – М., 1932. – С. 68 (здесь же вводная статья Н.И. Бухарина).
  8. Вавилов Н.И. Предисловие к переводу Дарвина «Происхождение видов» Дарвина. – М.-Л.: Сельхозгиз, 1935. – С. 47–49.
  9. Вавилов Н.И. Учение о происхождении культурных растений после Дарвина // Сов. наука. – 1940. – № 2. – С. 55–75.
  10. Ващенко И.М., Нечаева Е.П. О роли Н.И. Вавилова в переиздании книги Ч. Дарвина «Происхождение видов» [www.CNSHB.ru/hsbooks/pdf/vachenko\\_nechaev.pdf](http://www.CNSHB.ru/hsbooks/pdf/vachenko_nechaev.pdf)
  11. Дарвин Ч. Происхождение видов / Пер. К.А. Тимирязева. Под ред. Н.И. Вавилова и В.Л. Комарова. – М.-Л.: ОГИЗ-СЕЛЬХОЗГИЗ, 1937. – 608 с.
  12. Эбыбина С.П. Воспоминания о Н.И. Вавиллове. – М.: ФГОУ ВПО РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева, 2007. – 123 с.
  13. Есаков В.Д., Курносова Л.В., Авруцкая Т.Б., Дубровина Н.И. Студенческий дневник Н.И. Вавилова // Человек. – 2005. – № 5. – С. 138–151.
  14. Николай Иванович Вавилов. Научное наследие. Т. 10. Из эпистолярного наследия 1929–1940 гг. / Сост. и авторы коммент.: В.Д. Есаков, Е.С. Левина. Отв. ред. С.Р. Микулинский. – М.: Наука, 1987. – 490 с.
  15. Резник С.Е. Николай Вавилов. – М.: Молодая гвардия, 1968. – 336 с. (ЖЗЛ).
  16. Смирнов Е.Б., Нечаева Е.П. О роли Н.И. Вавилова в переиздании книги Ч. Дарвина «Происхождение видов» / В кн.: Материалы Международной конференции «Научное наследие Н.И. Вавилова – фундамент развития отечественного и мирового сельского хозяйства». Москва, 27–28 ноября 2007 г. – М.: ФГОУ ВПО РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева, 2007. – С. 14–15.
  17. *Цель жизни – наука* / Публ. подгот.: Т.Б. Авруцкая, Л.В. Курносова, В.Д. Есакова, Н.И. Дубровина // Человек. – 2005. – № 5. – С. 135–151.
  18. *Darwin Ch. The variation of animals and plants under domestication (popular edition)*. – London, 1905.

Интернет-источники:

[www.CNSHB.ru/hsbooks/pdf/vachenko\\_nechaev.pdf](http://www.CNSHB.ru/hsbooks/pdf/vachenko_nechaev.pdf)  
[www.CNSHB.ru/hsbooks/pdf/from\\_book.pdf](http://www.CNSHB.ru/hsbooks/pdf/from_book.pdf)  
[www.CNSHB.ru/hsbooks/pdf/vachenko\\_nechaev.pdf](http://www.CNSHB.ru/hsbooks/pdf/vachenko_nechaev.pdf)

Об авторе

Юрий Николаевич Вавилов родился в 1928 году в Ленинграде. Сын Николая Ивановича Вавилова. Окончил физический факультет ЛГУ, затем поступил в аспирантуру в Физический институт им. П.Н. Лебедева АН СССР (ФИАН). По окончании аспирантуры с 50-х годов XX века по настоящее время работает научным сотрудником ФИАН. Доктор физико-математических наук. В течение более 50 лет занимается исследованием творчества своего отца. Наиболее важные его публикации по данному вопросу: «Жизнь коротка, надо спешить» (1990) – сборник избранных трудов Н.И. Вавилова, «Вавилов Н.И. Научное наследие в письмах. Международная переписка. В 6 томах» (1994–2003) (ред.), «Вавилов Н.И. Документы. Фотографии» (1995) (ред.), «Суд палача» (1999), «В долгом поиске. Книга о братьях Николае и Сергее Вавиловых» (2004), ряд статей в журнале «Вестник РАН» и других журналах и др.

**Резюме.** Юрий Вавилов, сын знаменитого ученого Николая Вавилова, основываясь на семейном архиве, публикует комментарии своего отца к книге Ч. Дарвина «Изменчивость животных и растений при одомашнивании (популярное издание), Лондон, 1905» и дает собственные пояснения.

*Ключевые слова:* история науки, биология, генетика, сельское хозяйство, Чарльз Дарвин, Николай Вавилов.

## ONCE MORE ABOUT MY FATHER: SOME FACTS FROM FAMILY ARCHIVE. NIKOLAY VAVILOV READS DARWIN'S ORIGINAL TEXTS

Yu.N. VAVILOV

*P.N. Lebedev Physical Institute of RAS, Moscow*

Yuri Vavilov, a son of the famous scientist Nikolay Vavilov, basing on his family archive, published his father commentaries to Ch. Darwin work «The variation of animals and plants under domestication (popular edition), London, 1905» and gave his own remarks.

*Keywords:* history of science, biology, genetics, agriculture, Charles Darwin, Nikolay Vavilov.

## ЮБИЛЕЙНЫЕ И ЗНАМЕНАТЕЛЬНЫЕ ДАТЫ 2007 ГОДА

### К 120-летию со дня рождения Э. Шредингера



Эрвин Рудольф Йозеф Александр Шредингер является одной из ярких фигур науки XX века. Он родился 12 августа 1887 года в Вене. В 1910 г. окончил Венский университет. Во время Первой мировой войны служил артиллеристом, после нее стал работать в Венском и Йенском университетах. В 1920–1921 гг. состоял на должности профессора Высшей технической школы в Штутгарте и Бреслау, в 1921 г. — в Высшей технической школе в Цюрихе.

В 1927 г. после ухода в отставку М. Планка он по приглашению последнего занял кафедру теоретической физики в Берлинском университете (Шредингер уже изложил основы своей теории волновой механики в 4 классических работах 1926 г. в «Annalen der Physik»).

После прихода в Германии к власти фашистов в 1933 г. он оставил берлинскую кафедру и обосновался в Оксфорде, где состоял в университете на должности приглашенного профессора в 1933–1935 гг. (туда же пришло известие о присуждении ему Нобелевской премии в 1933 г.).

В 1936 году вернулся в Австрию и принял предложение стать профессором университета в Граце, но после аншлюса его родного государства к Германии в 1938 г. был вынужден оставить этот пост и бежать в Италию.

Далее последовала жизнь в эмиграции. Он в 1940 году переехал в Ирландию, где сначала стал профессором Королевской академии в Дублине, а затем директором основанного им Института фундаментальных исследований, оставаясь в этой должности около 17 лет. Здесь он занимался исследованиями по волновой механике, статистике, статистической термодинамике, теории поля и общей теории относительности. В этот период, в 1944 г. вышла его знаменитая книга «Что такое жизнь с точки зрения физики?».

В 1956 г. Шредингер вернулся в Австрию и принял кафедру теоретической физики Венского университета, которой руководил до своей отставки в 1958 г. Скончался ученый 4 января 1961 году от туберкулеза. Похоронен в тирольской деревне Альпбах: на надгробном кресте изображено уравнение Шредингера и эпитафия: «R.I.P. — лат. «Requiescat in pace» («Да почует с миром») (рис. 1).



Рис. 1. Могила Эрвина Шредингера.  
Альпбах (Австрия)

Главные труды Э. Шредингера посвящены статистической физике, квантовой теории, квантовой механике. Отталкиваясь от гипотезы Луи де Бройля о волнах материи и принципа Гамильтона, он разработал новое направление — волновую механику, вывел основное уравнение нерелятивистской квантовой механики (уравнение Шредингера) и дал его решение для частных случаев. Кроме того, им установлена связь волновой механики с матричной механикой Гейзенберга и доказана их физическая тождественность.

В 1933 году Эрвину Шредингеру вместе с Полем Дираком была присуждена Нобелевская премия по физике «за открытие новых плодотворных форм атомной теории» (в 1933 г. была также вручена Нобелевская премия за 1932 г. В. Гейзенбергу; кстати, в это же время получил премию и Бунин).

Шредингер представлял собой необычный тип ученого. Его отличали философский склад ума, пренебрежение к бытовому комфорту, разносторонность интересов (известно, что он напечатал сборник своих стихов). Он знал 6 языков (причем, мог читать в подлиннике античных авторов). Обладал даром неожиданных, порой парадоксальных высказываний, например: «Я иду против течения, но направление потока изменится».

Будучи рационалистом и монистом, он не терпел всякой неоднозначности, дуализма, как мировоззренческого, так и методологического. Он верил в безграничность возможностей человеческого разума, считая, что у человека есть достаточно степеней свободы для однозначного описания любых сложностей физических и иных процессов. Вот почему его не устраивала двойственность квантовой механики, в связи с чем он пытался свести ее к волновым основам (в конце жизни он вообще отошел от главного определения квантовой механики о корпускулярно-волновом дуализме и развивал только волновую идею). Известен его парадокс о «коте Шредингера», которым он пытался привлечь внимание к трудностям при переходе квантовой механики к макромиру. Не устраивали его и концепции копенгагенской школы, он критиковал ее особенно за принципы неопределенности и дополненности (Гейзенберг, Бор). Впрочем, человек, из-под пера которого вышло «уравнение Шредингера», мог себе это позволить. К тому же ему прощались и другие человеческие слабости.

Однако в контексте биологии и биотехнологии имя Шредингера значимо из-за его внезапного интереса к биологическим процессам, появившегося в 40-е годы и выразившегося в публикации книги «Что такое жизнь с точки зрения физики?». Эта тема уже поднималась в

журнале (Вестник биотехнологии ..., 2006, Т. 2, № 3, с. 72–73). Следует лишь еще раз подчеркнуть, что данная книга Шредингера сыграла большую роль в привлечении внимания представителей точных наук к проблемам генетики и молекулярной биологии.

В заключение надо указать на то, что в 1928 г. Шредингер был избран членом-корреспондентом по разряду физических наук, а в 1934 г. — почетным членом Академии наук СССР. Вряд ли следует упоминать, что он был избран в ряд других самых престижных академий и научных обществ мира: Лондонское королевское общество и др., был удостоен высоких наград: медаль Макса Планка Германского физического общества и т.д.

Читателям будет небезынтересен список переведенных на русский язык книг Шредингера: Новые пути в физике. М., 1971.; Что такое жизнь с точки зрения физики? М., 1972 (есть издание 1947 г.); Избранные труды по квантовой механике. М., 1976.; Наука и гуманизм, 2001; Мой взгляд на мир. М., 2005 (имеется электронная версия под названием «Мое мировоззрение»: [www.PHILOSOPHY.ru/library/vopros/70.html](http://www.PHILOSOPHY.ru/library/vopros/70.html)).

### К 85-летию со дня рождения Х.Г. Кораны

В 2007 году исполнилось 85 лет со дня рождения Хара Гобинда Кораны, крупного химика и молекулярного биолога, лауреата Нобелевской премии. Он — индус по происхождению и рождению, с 1966 г. — гражданин США.

Х.Г. Корана является одним из выдающихся ученых мирового уровня. Поэтому для Индии его значение сопоставимо с другим Нобелевским лауреатом — знаменитым физиком Ч. Раманом, автором «рамановской спектроскопии».

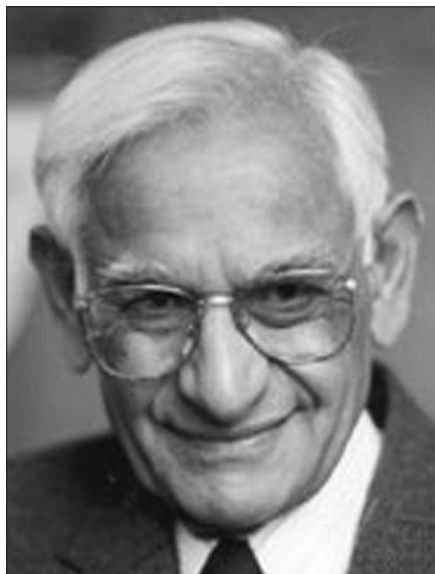
Корана, по официальным данным, родился 9 января 1922 г. Хотя некоторыми биографами отмечаются возможные неточности с годом рождения, что вполне вероятно в связи с тем, что он был рожден в отдаленной деревне индийской провинции Пенджаб (ныне — Пакистан). В бедной семье было 5 детей, из них Хар Гобинд — младший.

Начальное образование Корана получил во внешкольном классе, затем окончил школу и поступил в Пенджабский университет (в Лахоре), который окончил в 1943 г. В годы студенческой учебы специализировался в области химии. Через 2 года после окончания университета он был удостоен степени магистра с отличием.

Государственная стипендия дала ему возможность по окончании Второй мировой войны в 1945 г. поехать на



стажировку по органической химии в Великобритании, в Ливерпульский университет.



В 1948 г. он получил докторскую степень по органической химии за исследование пигмента виолацеина. После этого он изучал в течение года химическую структуру алкалоидов в Цюрихе (Швейцария) у известного химика Владимира Прелога, будущего лауреата Нобелевской премии (1975 г.).

Существенное значение для формирования Корана как ученого имела также работа в лаборатории Александра Тодда, авторитетного английского химика. Здесь он трудился в 1949–1952 гг. К этому времени относится разработка им совместно с Дж. Моффатом нового метода, благодаря чему им удалось синтезировать ацетилкоэнзим А. Эта работа сразу принесла Коране мировую известность. У Тодда Корана проявил глубокий интерес к изучению белков и нуклеиновых кислот, который сохранил на долгие годы.

В 1952 г. он получил приглашение стать директором отдела органической химии Университета Британской Колумбии в Ванкувере (Канада), где проработал до 1960 года, изучая химическую структуру коэнзима А.

В 1960 г. он был назначен на должность руководителя Института исследований ферментов Висконсинского университета (Мэдисон, США). В 1964 г. он занял должность профессора биологических наук в Висконсинском университете.

Начиная с 1970 г. Корана трудится в Массачусетском технологическом институте на должности Alfred P. Sloan профессора биологии и химии. В отставку он вышел в 2007 году. Сейчас он является заслуженным профессором этого института.

Вершиной творчества Кораны, увенчанного Нобелевской премией, является расшифровка генетического кода. Именно здесь понадобилась тонкая, изящная интуиция нации, которая изобрела шахматы, — код был расшифрован во всех его вариантах и сложных пунктах, до чего не дошел англосаксонский и испанский ум в лице лабораторий Ниренберга и Очоа. Оказалось, что здесь все не так просто, как искрометно предложил в начале 50-х годов Гамов в виде колоды карт четырех мастей. Вначале Корана, повторив эксперименты Ниренберга и Ледера, нашел, что некоторым аминокислотам соответствует более чем один триплет. На основании этого был сделан вывод, что генетический код вырожден.

Далее Корана с сотрудниками, используя методы прямого синтеза, построили цепи ДНК и РНК, состоящие из 64 возможных триплетов, и обнаружили те, которые служат сигналом к началу и концу биосинтеза специфического белка (старт-кодона, стоп-кодона). Кроме того, они выявили вторичную химическую структуру тРНК.

В 1968 г. Х.Г. Коране, М. Ниренбергу и Р. Холи была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине за расшифровку генетического кода и его роли в синтезе белков.

После Нобелевского цикла Корана сделал еще ряд крупных открытий. Была впервые синтезирована ДНК из 27 нуклеотидов. Был осуществлен синтез первого искусственного гена — гена кишечной палочки. В 70-е годы ученый занялся всесторонним изучением белка фоторецепторных клеток родопсина (все трех доменов) и опубликовал по данной теме большую серию работ, вплоть до 2000-х годов. Корана посещал нашу страну, бывал в Институте биоорганической химии РАН, общался с академиком Ю.А. Овчинниковым.

Ныне он здравствует и продолжает трудиться.

### **К 75-летию со дня рождения У. Гилберта**

21 марта 2007 года исполнилось 75 лет известному американскому молекулярному биологу, лауреату Нобелевской премии Уолтеру Гилберту.

Обстоятельства его жизни хорошо изложены в собственной автобиографии, входящей в пакет нобелевских документов (нобелевской лекции, банкетной речи и др.). Он родился в Бостоне в семье экономиста Ричарда В. Гилберта, работавшего в то время в Гарвардском университете. Мать, Эмма Коэн, была детским психологом и дала ему (вместе с младшей сестрой) хорошее домашнее образование.



В 1939 г. семья переехала в Вашингтон, где семилетний Уолтер учился сначала в государственных школах, а затем — в средней школе «Сидвеловских друзей». В школьные годы, по свидетельству ученого, он проявлял интерес к изучению минералогии, астрономии, неорганической химии.



По окончании средней школы в 1949 г. он поступил в Гарвардский университет, который окончил в 1953 г. с отличием. Был оставлен при этом университете для выполнения диссертации по физике. В 1954 году получил степень магистра. Затем Гилберт стажировался по физике в Англии, в Кембриджском университете. Здесь он познакомился к Дж. Уотсоном и Ф. Криком и вошел в круг разрабатываемых ими проблем. В 1957 г. он получил в Кембридже степень доктора по математике, после чего вернулся в США, в Гарвард. На родине он стал трудиться в качестве ассистента у физика Дж. Швингера, а в 1959 г. получил должность доцента физического факультета Гарвардского университета.

Начиная с 1960 г. под влиянием контактов с Дж. Уотсоном, который в том году перешел на работу в Гарвард, Гилберт стал заниматься вопросами молекулярной биологии, точнее мРНК и ее кругооборотом («recycling»). В промежутки времени между 1960 и 1964 гг. он делил свои интересы между физикой и биологией, пока в 1964 году не ушел с физического факультета и стал адъюнкт-профессором биофизического факультета. Здесь он целиком занялся исследованием проблемы синтеза белка в русле работ Ф. Жакоба и Ж. Моно.

Свои биохимические исследования он выполнял вместе с Б. Мюллер-Хиллом. Им удалось к 1966 г. на модели *E. coli* выделить репрессорный белок, который

ингибирует lac-оперон (группу генов, инициирующую синтез белков в присутствии лактозы). Затем они установили структуру и локализацию оператора, его положение на спирали ДНК, к которой присоединяется репрессор.

В 1977 г. У. Гилберт и А.М. Максам предложили новый метод секвенирования ДНК, основанный на разрыве ДНК по определенному нуклеотиду. Этот метод восходит к способу, предложенному в 60-е годы А.Д. Мирзабековым с соавт., которые предложили метилировать аденин и гуанин, после чего разрывать ДНК, используя реакции с метилированными соединениями. Модификация Гилберта и Максама позволила разрывать ДНК в определенных местах у каждого из четырех оснований. При использовании этого метода фрагменты ДНК под действием слабого электрического тока перемещаются в тонкослойном геле с различной, характерной для каждого фрагмента скоростью, а, будучи мечеными радиоактивными изотопами, они оставляют темные полосы на фотобумаге.

Параллельно Ф. Сенгером был разработан другой метод определения нуклеотидных последовательностей, что вместе с методом Гилберта и Максама явилось фундаментом для ставшего развиваться в то время нового направления — получения рекомбинантной ДНК, то есть основания генной инженерии. Вот почему этот цикл молекулярно-биологических исследований был немедленно отмечен Нобелевской премией по химии 1980 года. Одна ее половина была отдана У. Гилберту и Ф. Сенгеру за вклад в определение последовательности оснований в нуклеиновых кислотах, а другая — П. Бергу за сходную тему: фундаментальные исследования в области биохимии нуклеиновых кислот, в частности рекомбинантной ДНК. По-видимому, новичкам нобелевским лауреатам (Гилберту и Бергу) было вдвойне приятно получить премию вместе с Сенгером, который награждался ею уже второй раз (раньше он получил ее в 1958 г. за исследование структуры белков, прежде всего инсулина).

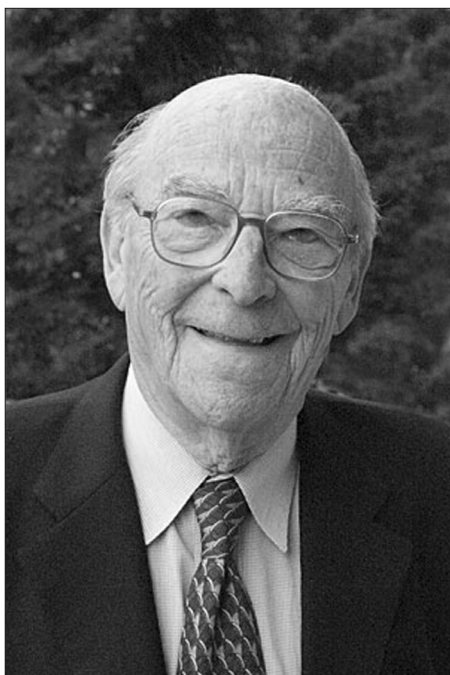
У. Гилберт в 1981 г. стал сооснователем и первым председателем совета директоров биотехнологической компании «Биоген». В 1984 году он возвратился в Гарвардский университет, где продолжил исследования по структуре гена и синтезу белков в рекомбинантных организмах.

Он был удостоен различных премий, почетных званий и членства в академиях и обществах, в основном в США.

В настоящее время он является председателем Гарвардского научного общества.

## СОБЫТИЯ ВТОРОЙ ПОЛОВИНЫ 2007 ГОДА

## Некролог

Памяти Артура Корнберга  
(1918–2007)

**27 октября 2007 года** все мировые СМИ известили о смерти знаменитого ученого, лауреата Нобелевской премии Артура Корнберга, последовавшей на 90-м году жизни. Он скончался накануне 26 октября в Стенфордском госпитале от дыхательной недостаточности.

Еще год назад его, радостного и счастливого, весь мир поздравлял с Нобелевским триумфом его сына Роджера. Это видели многие благодаря глобальным возможностям современного телевидения и Интернета. И вот ушел из жизни еще один великий исследователь XX века.

Редколлегия журнала отступит от традиционного для некрологов правила изложения фактов биографии почившего, поскольку недавно в нем была помещена подробная статья о Корнберге в связи с 50-летием его открытия ДНК-полимеразы (Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова, 2006, Т. 2, № 2, С. 63–67).

А. Корнберг относится к сравнительно редкому типу ученых, которых история развития науки выводит на острие, на прорывные точки, как бы подытоживающие

определенные этапы накопления фактов и информации и вдруг ошеломяющие всех простыми и неожиданными решениями. Так произошло и с работами Корнберга и Очоа середины 50-х годов XX века, когда они впервые в мире синтезировали в пробирке ДНК и РНК.

Отсюда возникла и всю жизнь сопровождала Артура Корнберга слава и повышенное внимание к его имени. Любое его слово воспринималось как откровение. Его обобщающие книги и руководства не убирались со столов специалистов. Отслеживались статьи и их идеи. Публицистические высказывания также выслушивались с уважением. В этом отношении Корнберг не разочаровывал своих почитателей. Тем более это ему не было трудно, поскольку он обладал огромным даром слова и интенсивно эксплуатировал этот свой талант, вплоть до конца дней. Как пример этого, в ноябре 2007 г. в магазинах появляется его книга для детей «Germ Stories» — в ней он собрал свои рассказы о бактериях, которые он в свое время придумывал для троих маленьких сыновей.

Что хотелось бы подчеркнуть в памятном слове на смерть столь необычного человека? Первое и главное все же — это его беспримерная любовь и уважение к учителям. Об этом свидетельствуют и его две публикации (некролог и мемориальная статья) об Очоа, прижизненный сборник работ, посвященный ему (1976, под редакцией Корнберга), его прекрасная статья «Воспоминания о наших учителях», где он, кроме Очоа, упоминает супругов Кори, и т.д. Наверное, учителя что-то вложили в него особое, что дало такой долговременный отпечаток, или же это особенность его личности. Второе — профессиональное долгожительство. Он до глубокой старости сохранял ясность ума, чувство юмора и творческую активность (продолжал работать в лаборатории до самых последних дней жизни). Третье — безграничная преданность науке, он жил в ней и вне ее не мыслил себя. Чтобы убедиться в этом, достаточно прочитать его искреннее, очень тонкое предисловие к переводной книге И. Харгиттаи «Откровенная наука: беседы с корифеями биохимии и медицинской химии» (2006). Или же обратиться к его прекрасной Роберта Чейза лекции «Reflections on science and medicine», прочитанной в Стенфорде 15 апреля 2005 г. (имеется видеofilm <http://wrinkle.stanford.edu:9000/lanevid/Winter/streaming-faq.html>).

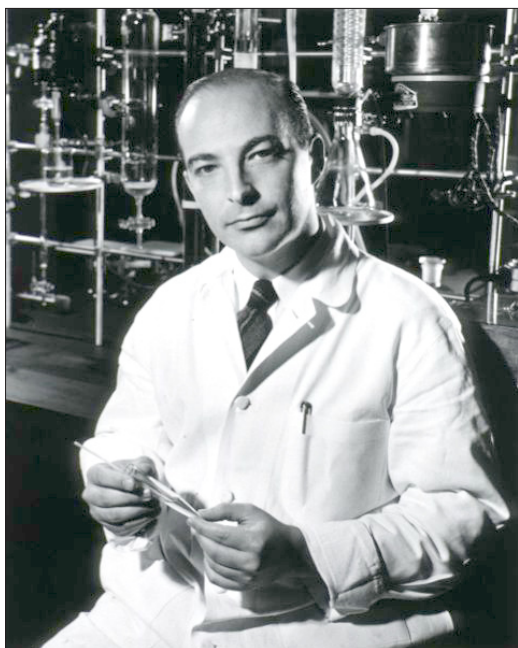


Рис. 1. Артур Корнберг в лаборатории (1959)

И еще надо подчеркнуть роль семьи. Он воспитал трех сыновей, один из которых стал биохимиком и, как и отец, Нобелевским лауреатом, второй — также известным биохимиком, а третий — архитектором. Верного единомышленника по жизни и работе он нашел в лице супруги Сильвии (биохимика по специальности), которая во многом ему помогала, особенно в период работы над ДНК-полимеразой. В науке широко известен феномен семейных тандемов: два поколения химиков супругов Кюри, неврологи Дежерин, биохимики Герта и Карл Кори, биохимики В.А. Энгельгардт и М.Н. Любимова. По-видимому, не случайно после получения Артуром Корнбергом Нобелевской премии в 1959 г. его жена воскликнула: «I was robbed!» («Меня ограбили!»). Оставив в стороне юмористическую подоплеку события, следует указать, что главное здесь не эмоции, а существо дела — жена помогла талантливому мужу совершить одно из выдающихся открытий в истории химии.

Говорить о его уникальном изобретательном уме биохимика — излишне, специалистам это хорошо известно. Хотя о некоторых аспектах упомянуть следует. Стержневая линия его исследований ДНК прослежена достаточно. А вот его глубокий интерес к неорганическим полифосфатам еще ждет объяснения. Биографам, биохимикам, биотехнологам, историкам науки предстоит работа в этом направлении. Человек, совершивший одно из величайших открытий XX века, не мог из праздности или по другим легковесным причинам так серьезно войти в новую для себя проблему

и за 15 последних лет своей жизни выполнить здесь большой цикл исследований.

Уход человека из жизни — всегда горестное событие, даже в преклонном возрасте. Хотя смерть в 90 лет человека такого напряженного труда — это ныне редкость, дар Божий. Но в этой связи хотелось бы сказать, что он — счастливый человек, ибо ему было предуготовано дожить до высокого общественного признания научной деятельности своего сына — присуждения Нобелевской премии. Как радовался 88-летний отец победе 59-летнего сына! Он сам сказал об этом в октябре 2006 года, когда пришла приятная вест из Швеции: «Я давно ждал этого события и преисполнен чувства благодарности, что дожил до того момента, когда это случилось». Интересно, что при церемонии вручения премии Артуру Корнбергу в 1959 г. присутствовал его 12-летний сын Роджер. История повторилась через 47 лет, только в 2006 году они поменялись местами: при вручении премии Роджеру присутствовал престарелый отец.

Обширна иконография ученого. За его долгую жизнь он был сфотографирован сотни раз. И везде он с мягкой, теплой улыбкой, свидетельствующей о хорошем душевном здоровье и чувстве юмора, как бы подтверждающей колоритное назидание Н.В. Тимофеева-Ресовского: «Не надо относиться к науке со звериной серьезностью».

Помещаем фото молодого Артура Корнберга 1959 г. — периода его великого открытия. Пусть новые поколения исследователей видят, как выглядит человек, которому Бог открывает свои самые сокровенные тайны (рис. 1).

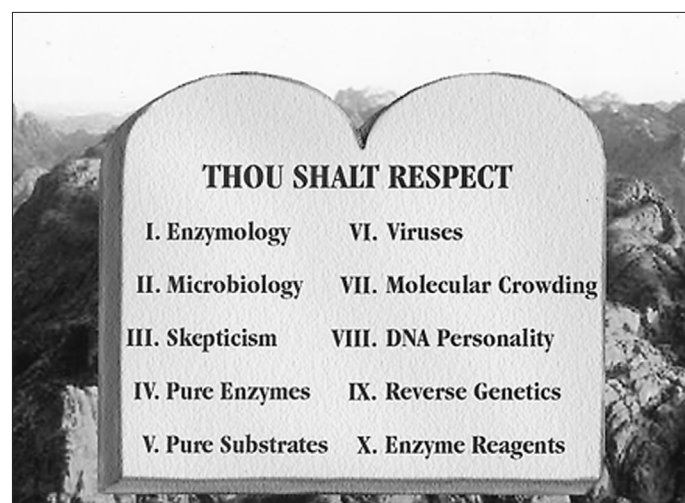


Рис. 2. «Десять заповедей» энзимолога по А. Корнбергу



Несомненная беллетристическая одаренность и остроумие ученого выражались в его увлечении афоризмами. Так, например, он любил повторять фразу, приписываемую Жаку Моно (1954): «Что верно для кишечной палочки, то верно для слона». Надо сказать, что еще в 1926 г. голландец Альберт Ян Клювер сформулировал сходную мысль: «От слона до бактерии — все одно и то же».

Крайне интересны для специалистов советы А. Корнберга, оригинально оформленные в виде 10 заповедей энзимолога (рис. 2). Их он опубликовал в своей статье: Ten commandments: lessons from the enzymology of DNA replication // J. of Bacteriology. — 2000. — Vol. 182. — N 13. — P. 3613–3618. Среди них есть заповедь под номером 4: «Не тратьте чистые мысли на неочищенные ферменты!». Придумал данный афоризм биохимик Эфраим Рэкер (1913–1991), который изрек его незадолго до смерти. Артуру Корнбергу очень нравилась эта фраза, и он часто ее повторял, так что нередко в литературе ему приписывают авторство ее. Имеются здесь и другие остроумные и в то же время утилитарные советы.

Необычные суждения Корнберг высказывает в статье «Of Serendipity and Science» (1995, [http://www.rockefeller.edu/pubinfo/Pasteur/Kornberg\\_essay.html](http://www.rockefeller.edu/pubinfo/Pasteur/Kornberg_essay.html)). Так, он изречение Платона «Необходимость — мать открытия» истолковывает следующим образом. Надо сначала сказать: «Открытие есть мать необходимости», а уже потом наступает действие платоновской сентенции.

Здесь же он приводит рассказ о хирурге и биохимике. Оба шли вдоль берега озера. Увидев тонущего человека, хирург вытащил его из воды и оказал помощь. Затем то же самое проделал для другого тонущего. Потом они увидели еще двоих тонущих. Хирург крикнул: «Я спасаю этого, а вы того!». Однако биохимик оставался в раздумье. Тогда хирург воскликнул: «Почему же вы ничего не делаете?». Биохимик спокойно ответил: «Я кое-что предпринимаю. Я пытаюсь понять, кто бросил этих людей в озеро». Вывод Корнберга из этой притчи: «Оба правы». В этом контексте он рассматривает роль фундаментальной науки: каждый должен делать свое дело.

**15 ноября 2007 года** состоялось заседание попечительского совета Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова. Заседание проходило в Институте биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН под руководством председателя попечительского совета, первого заместителя Председателя Государственной Думы РФ О.В. Морозова. Был заслушан доклад президента Общества биотех-

нологов России им. Ю.А. Овчинникова Р.Г. Василова «Биоэкономика, основанная на знаниях — стратегическая задача развития России в XXI веке» и принято решение попечительского совета (см. на сайте ОБР: [www.biorosinfo.ru](http://www.biorosinfo.ru)).

### К 120-летию со дня рождения Н.И. Вавилова



**25 ноября 2007 года** исполнилось 120 лет со дня рождения выдающегося отечественного ученого, генетика, растениевода, ботаника, географа, Николая Ивановича Вавилова. В связи с этой датой в разных городах РФ был проведен ряд мемориальных мероприятий.

**18 октября 2007 года** в Москве, в Политехническом музее состоялось заседание памяти Н.И. Вавилова, проведенное в рамках «Трибуны Российской академии наук в Политехническом музее», которую курирует бывший президент АН СССР, академик Г.И. Марчук. Он же открыл заседание, рассказав о значении вклада Н.И. Вавилова в мировую науку и событиях, связанных с проведением 100-летнего юбилея ученого в 1987 году и роли Академии наук СССР в этом мероприятии. После этого главный доклад сделал академик РАСХН В.А. Драгавцев, который провел обстоятельный, высокопрофессиональный анализ жизни и деятельности Николая Ивановича Вавилова. Это ему было сделать относительно легко, поскольку он в свое время возглавлял Всероссийский институт растениеводства (ВИР) в Санкт-Петербурге, детище Н.И. Вавилова, уникальное учреждение, хранилище мировой коллекции растений,



собранный великим естествоиспытателем. Затем выступил сын Н.И. Вавилова, Юрий Николаевич, доктор физико-математических наук, сотрудник Физического института им. П.Н. Лебедева РАН, на протяжении полувека посвятивший себя изучению творчества и восстановлению доброго имени своего знаменитого отца, незаслуженно репрессированного в период культа личности. В заключение состоялся концерт.

**26–30 ноября 2007 года** в Санкт-Петербурге (месте наивысшего расцвета деятельности ученого) прошла II Вавиловская международная конференция «Генетические ресурсы культурных растений в XXI веке: состояние, проблемы, перспективы», приуроченная к юбилейной дате. Открытие и пленарные заседания состоялись в Санкт-Петербургском научном центре РАН, на Университетской набережной (где часто принимал участие в научных заседаниях Н.И. Вавилов). На пленарных заседаниях выступили 78 докладчиков из 26 стран. Организаторами мероприятия были ученые ВИРа и Северо-Западного научно-методического центра РАСХН. К 120-летию Н.И. Вавилова в Санкт-Петербурге были изданы Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции, брошюра, буклет, альбом, памятный значок, конверт с юбилейным гашением. В г. Пушкин на здании лабораторий ВИРа была установлена памятная доска в честь Н.И. Вавилова. Была выпущена также книга, посвященная супруге ученого: «Милая и прекрасная Леночка...». Елена Барулина — жена и соратница Николая Вавилова» (авт. — М.А. Вишнякова). Были активны петербургские СМИ, которые называли ученого «гением аграрной науки».

**27–28 ноября 2007 года** в Москве (месте рождения Николая Ивановича) по случаю вавиловского юбилея состоялась Международная конференция «Научное наследие Н.И. Вавилова — фундамент развития отечественного и мирового сельского хозяйства». Она была организована ФГОУ ВПО «Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К.А. Тимирязева» — «тимирязевкой», alma mater ученого. К юбилею организаторы выпустили сборник материалов конференции, книгу в честь Н.И. Вавилова с его полной библиографией в серии «Выдающиеся выпускники и профессора Петровской (Тимирязевской) академии Российского государственного университета — МСХА имени К.А. Тимирязева», специальный номер газеты «Тимирязевка», посвященный «легендарному выпускнику». Научная повестка пленарного заседания была

представлена докладами ученых из разных стран (РФ, Болгария, США, Бельгия). Было проведено 5 секций по актуальным проблемам биологических и сельскохозяйственных наук. В торжественной обстановке сыну Н.И. Вавилова Юрию Николаевичу была вручена мантия Почетного доктора РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева за большие заслуги в популяризации научного наследия отца. Он, в свою очередь, вручил ректору В.М. Баутину редкое дореволюционное издание дипломной работы Н.И. Вавилова «Голье слизи (улитки), повреждающие поля и огороды в Московской губернии», опубликованной в 1910 году. Принято решение об установке памятника Вавилову на территории Тимирязевской академии.

**29–30 ноября 2007 года** в Саратове (месте начала профессорской деятельности и вечного упокоения) были проведены очередные юбилейные «Вавиловские чтения» в виде Международной научно-практической конференции, посвященной 120-летию со дня рождения Николая Ивановича Вавилова. Конференция состоялась в Саратовском аграрном университете, носящем имя Н.И. Вавилова, где в 1917–1921 гг. трудился молодой профессор и в 1920 году открыл свой закон гомологических рядов. На конференцию прибыли из Москвы академик РАН Г.И. Марчук, сын Н.И. Вавилова — Юрий Николаевич. Повестка дня была очень насыщенной: всем аграриям хотелось выступить на юбилейных вавиловских чтениях. Были изданы брошюра, новый буклет, вышли два тома спецвыпуска научных трудов. Выпущен значок, заложена аллея Вавилова, создан новый кинофильм. Проведена малая Вавиловская олимпиада на базе школы им. Н.И. Вавилова. В целом в Саратове весь 2007 год прошел, как и в 1987 г., под девизом «года Вавилова».

**20 декабря 2007 года** в Москве, в Институте общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН состоялись 8-е Вавиловские чтения, посвященные 120-летию со дня рождения Н.И. Вавилова. Был заслушан доклад академика РАН В.К. Шумного, члена-корреспондента РАН Н.А. Колчанова (Новосибирск) «Закон гомологических рядов Н.И. Вавилова: взгляд из XXI века (к 120-летию со дня рождения Н.И. Вавилова)».

**13 декабря 2007 года** — Президент РФ В.В. Путин вручил в Кремле орден «За заслуги перед отечеством» III степени директору Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, академику РАН В.Т. Иванову, удостоенному награды в связи с 70-летием со дня рождения.

**В декабре 2007 года** в Москве состоялось вручение премий Правительства РФ 2007 года в области образования, в том числе за подготовку кадров в области биотехнологии.

Постановление Правительства Российской Федерации от 2 августа 2007 г. № 497 г. Москва «О присуждении премий Правительства Российской Федерации 2007 года в области образования».

Рассмотрев предложения Межведомственного совета по присуждению премий Правительства Российской Федерации в области образования, Правительство Российской Федерации постановляет:

Присудить премии Правительства Российской Федерации 2007 года в области образования:

...

9. Береговых Валерию Васильевичу, доктору технических наук, профессору, члену-корреспонденту Российской академии медицинских наук, заведующему кафедрой Московской медицинской академии имени И.М. Сеченова; Быкову Валерию Алексеевичу, доктору технических наук, профессору, директору Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений; Иванову Вадиму Тихоновичу, доктору химических наук, профессору, академику Российской академии наук, директору Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Овчинниковой Татьяне Владимировне, кандидату химических наук, старшему научному сотруднику, заведующей отделом, — работнику того же института; Победимскому Дмитрию Глебовичу, доктору химических наук, профессору, главному научному сотруднику Научно-исследовательского института — Республиканского исследовательского научно-консультационного центра экспертизы; Фролковой Алле Константиновне, доктору технических наук, профессору, — ректору Московской государственной академии тонкой химической технологии имени М.В. Ломоносова, Симонову-Емельянову Игорю Дмитриевичу, доктору технических наук, профессору, Миронову Андрею Федоровичу, Швецу Виталию Ивановичу, докторам химических наук, заведующим ка-

федрами, профессорам, Соломонову Валерию Александровичу, кандидату химических наук, доценту, проректору, — работникам той же академии, — за создание научно-практической разработки «Российский инновационный учебно-научный комплекс для подготовки кадров в области биотехнологии» для образовательных учреждений высшего профессионального образования.

Опубликовано в «РГ» — Федеральный выпуск №4433 от 7 августа 2007 г. (<http://rg.ru/2007/08/07/obrazovanie-dok.html>).

## НОВОСТИ МИРА НАУКИ

### Джеймс Уотсон

#### о расовых и генетических детерминантах ума

Джеймс Уотсон, знаменитый молекулярный биолог, оказался в центре внимания западных СМИ. На этот раз это связано с его газетным интервью, в котором он высказал свое мнение о несостоятельности идеи равных умственных способностей всех расовых групп. При этом он отметил, что западная политика в отношении африканских стран была ошибочно основана на предположении, что чернокожие так же умны, как и их белые коллеги, тогда как все «тесты» свидетельствуют об обратном. Дж. Уотсон дал прогноз, согласно которому, гены, ответственные за формирование различий в мозгу человека, будут найдены в ближайшие 10 лет.

Цитата из интервью Дж. Уотсона: «Нет твердого основания для предположения, что умственные способности людей, географически разделенных в ходе эволюции, должны были развиваться идентично. Нашего желания видеть у всех равные умственные способности как некое всеобщее наследие человечества, недостаточно, чтобы сделать их таковыми».

В СМИ реакция на высказывания Дж. Уотсона реакция была в целом отрицательной, в связи с чем 79-летнему ученому пришлось давать публичные разъяснения.

Источник: <http://www.novopol.ru/article28911.html>

## ПРЕДСТОЯЩИЕ МЕРОПРИЯТИЯ 2008 ГОДА

### КОНФЕРЕНЦИИ, СЪЕЗДЫ

**11–15 февраля 2008 года** в Москве состоится 20-я Молодежная научная школа «Перспективные направления физико-химической биологии и биотехнологии».

**19–20 февраля 2008 года** в Стокгольме (Швеция) состоится 5-я Ежегодная конференция и выставка

по биотехнологии («Biotechnology; 5th Annual Conference and Exhibition»).

**5–7 марта 2008 года** в Мальме (Швеция) состоится Nordic Biogas Conference. [www.iea-biogas.net/](http://www.iea-biogas.net/).

**11–13 марта 2008 года** в Москве состоится Международная научно-практическая конференция «Биотехнология. Вода и пищевые продукты» и VI Международная специализированная выставка «Мир биотехнологии – 2008». Справки: тел.: (495) 981-70-51; E-mail: [aleshnikova@mosbiotechworld.ru](mailto:aleshnikova@mosbiotechworld.ru).

### ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

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 сведения об авторе (ах): Ф.И.О., место работы, должность, научные степень и звание, адреса для переписки и электронной связи, номера факсов и телефонов. Необходимо сопроводительное письмо из учреждения.
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
5. 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.

ISSN 1996-4741



Подписано к печати 30.12.07

Формат 60/90<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Бумага офсетная № 1. Печать офсетная.

Гарнитура Академия. Печ. л. 5,0. Тираж 1000 экз.

## 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.: 8-495-648-09-13*

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