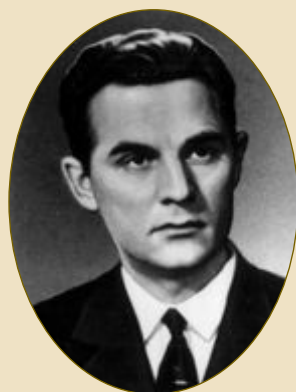


· БЕЛОЗЕРСКИЙ · ТОДД · СЕНГЕР · ОЧОА ·

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

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

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



**Т. 6, № 4**  
**2010**

· СМИТ · ГИЛБЕРТ · БЕРГ · ЭНГЕЛЬГАРДТ ·

2010, Т. 6, № 4

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

**Научно-практический журнал**

**Основан в 2005 году**

**Главный редактор**

Р.Г. Василев

**Редакционная коллегия**

Е.Г. Борисенко, В.С. Воробьев, С.И. Матаев, 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),  
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. Скрыбин (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: 119071 Москва, Ленинский пр-т, 33

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.: +7 (495) 648-09-13

E-mail: raifvasilov@biorosinfo.ru

*Издается при поддержке*

*Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова*

**ISSN 1996-4741**

© Информационно-аналитический центр  
медико-социальных проблем, 2010.

**СОДЕРЖАНИЕ**

**Колонка главного редактора**

К читателям. *Р.Г. Василев* ..... 4

**Оригинальные статьи**

Сезонные изменения экспрессии N2B и N2BA изоформ тайтина в миокарде зимнеящих сусликов  
*Spermophilus undulatus*.

*Е.В. Карадулева, И.М. Вихлянцева, М.Н. Тутукина, Э.А. Подлубная* ..... 5

Генотипирование микроорганизмов семейства Lactobacillaceae родов Streptococcus, Lactococcus,  
Enterococcus, Weissella методом ПЦР-ПДРФ.

*В.Н. Афонюшкин, М.А. Титова, В.Ю. Коптев, Н.А. Шкиль, М.Л. Филиппенко, Е.В. Дударева* ..... 13

Оптимизация условий глубинного культивирования штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93 —  
биодеструктора метилфосфонатов.

*К.К. Стяжкин, С.Л. Кузнецов, И.В. Дармов, И.В. Живов, А.А. Лещенко,  
А.Г. Лазыкин, И.П. Погорельский, А.В. Ваганов*..... 19

**Обзоры**

О Стратегии развития биотехнологической отрасли промышленности  
Российской Федерации до 2020 года.

*Р.Г. Василев, В.И. Трубников*..... 26

Синтропии и персонализированная медицина.

*В.П. Пузырев* ..... 35

Национальная сеть биологического скрининга (НСБС) в России: концепция, новые парадигмы,  
биологическая компонента.

*В.Н. Даниленко* ..... 42

Создание вакцин в России: современное состояние и перспективы.

*И.В. Красильников* ..... 47

Генетика аутоиммунных состояний и персонализированная медицина — проблемы и возможности.

*Александра Жернакова* ..... 51

**Страницы истории**

К 70-летию со дня смерти Николая Константиновича Кольцова.

*В.С. Воробьев* ..... 55

К 50-летию вручения Нобелевской премии Бернету и Медавара за открытие  
приобретенной иммунологической толерантности.

*О.В. Воробьева* ..... 68

**Хроника**

События второй половины 2010 года..... 76

**Правила для авторов** ..... 78

**CONTENTS**

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

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

**Original articles**

Seasonal changes in the expression of N2B and N2BA titin isoforms in the myocardium of hibernating ground squirrels *Spermophilus undulatus*.  
*E.V. Karaduleva, I.M. Vihlyantsev, M.N. Tutukina, Z. Podlubnaya* ..... 5

Genotyping of microorganisms of the family Lactobacillaceae genera *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Weissella* by PCR-RFLP method.  
*V.N. Afonyushkin, M.A. Titova, V.Y. Koptev, N.A. Shkil, M.L. Filippenko, E.V. Dudareva* ..... 13

Optimization of conditions for submerged cultivation strain of *Pseudomonas fluorescens* EK-5-93 – biodestructors methylphosphonates.  
*K.K. Styazhkin, S.L. Kuznetsov, I.V. Darmov, I.V. Zhivov, A.A. Leschenko, A.G. Lazykin, I.P. Pogorelskiy, A.V. Vaganov* ..... 19

**Reviews**

Strategy for the development of the biotechnology industry of the Russian Federation until 2020.  
*R.G. Vasilov, V.I. Trubnikov* ..... 26

Syntropies and personalized medicine.  
*V.P. Puzyrev* ..... 35

National network of biological screening (NNBS) in Russia: the concept, the new paradigms, the biological component.  
*V.N. Danilenko* ..... 42

Vaccine development in Russia: current state and prospects.  
*I.V. Krasilnikov* ..... 47

Genetics of autoimmunity and personalized medicine – problems and possibilities.  
*Alexandra Zhernakova* ..... 51

**Pages of history**

To the 70<sup>th</sup> anniversary of the death of Nikolay Konstantinovich Koltsov.  
*V.S. Vorobyev* ..... 55

By the 50<sup>th</sup> anniversary of the Nobel Prize Burnet and Medawar for the discovery of acquired immunological tolerance.  
*O.V. Vorobyeva* ..... 68

**The chronicle**

Events of the second half-year 2010 .....76

**Rules for authors** .....78

## К читателям

В четвертом номере журнала за 2010 год помещен ряд оригинальных статей. В работе Е.В. Карадулевой с соавт. из Пушкино исследовались молекулярно-биологические основы (на примере белка тайтина) адаптации миокарда к сезонным изменениям у зимнеявщих животных. В.Н. Афонюшкин с коллегами (Новосибирск) представили результаты генотипирования семейства *Lactobacillaceae*. Авторский коллектив из Кирова сообщил о своих данных по оптимизации условий глубинного культивирования штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93, который используется для биодеструкции метилфосфонатов (гербицида глифосата).

Большой интерес для читателей может представить публикация окончательного текста Стратегии развития биотехнологической отрасли промышленности Российской Федерации до 2020 года, прошедшей стадию тщательного обсуждения и утвержденной в декабре 2010 г. Союзом предприятий биотехнологической отрасли и Обществом биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова.

В номере продолжено печатание материалов II Международного конгресса «ЕвразияБио-2010». Публикуются доклады академика РАМН В.П. Пузырева (Томск) о синтропиях и персонализированной медицине, профессора В.Н. Даниленко (Москва) — о возможностях создания национальной сети биологического скрининга в России, профессора И.В. Красильникова (Москва) — о состоянии и перспективах разработки вакцин в России, Александры Жернаковой (Лейден, Нидерланды) — о генетике аутоиммунных заболеваний в связи с персонализированной медициной.

В историческом разделе помещены две статьи, посвященные 70-летию со дня смерти Н.К. Кольцова и 50-летию со дня получения Нобелевской премии Ф.М. Бернетом и П.Б. Медаваром за открытие приобретенной иммунологической толерантности.

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

## СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ N2B И N2BA ИЗОФОРМ ТАЙТИНА В МИОКАРДЕ ЗИМНЕСПЯЩИХ СУСЛИКОВ *SPERMOPHILUS UNDULATUS*

Е.В. КАРАДУЛЕВА<sup>1\*</sup>, И.М. ВИХЛЯНЦЕВ<sup>1</sup>, М.Н. ТУТУКИНА<sup>2</sup>, З.А. ПОДЛУБНАЯ<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,

<sup>2</sup> Учреждение Российской академии наук Институт биофизики клетки РАН,

<sup>3</sup> Пущинский государственный университет, Пущино Московской области

Проведено исследование сезонных изменений в экспрессии N2B и N2BA изоформ тайтина на уровне белка и мРНК в миокарде сусликов (*Spermophilus undulatus*) в разные периоды годового цикла: летняя активность, осенняя активность (подготовка к спячке), гибернация, пробуждение, зимняя активность (межбютная активность), вход в спячку. В миокарде осенних активных сусликов обнаружено увеличение (в 1,5–2 раза) доли N2BA изоформы тайтина по отношению к его N2B изоформе в сравнении с их содержанием в сердечной мышце летних активных животных. В период гибернации в миокарде сусликов наблюдалось незначительное снижение количества тайтина, которое восстанавливалось при пробуждении животного. При этом увеличенное соотношение N2BA/N2B изоформ тайтина сохранялось на протяжении всего гибернационного сезона. Впервые на электрофореграммах сердечной мышцы пробуждающихся и осенних активных сусликов выявлены двойные полосы N2BA изоформы тайтина. На уровне мРНК экспрессия сердечных изоформ тайтина оказалась сниженной в среднем в 5 раз на всех фазах гибернационного сезона, а также в прегибернационный период осенней активности по сравнению с контрольным уровнем экспрессии у летних активных животных. Обнаруженные сезонные изменения в экспрессии изоформ тайтина обсуждаются в контексте адаптации сусликов к гибернации.

**Ключевые слова:** экспрессия гена тайтина, N2B и N2BA изоформы тайтина, гибернация.

### Введение

Гибернация, или зимняя спячка, млекопитающих — это удивительная стратегия выживания в суровых природных условиях за счет резкого угнетения активности всех физиологических систем организма, что сопровождается снижением температуры тела животного до температуры окружающей среды [1]. Во время спячки сердце гибернантов продолжает функционировать даже при температурах, близких к 0 °С. В частности, у суслика *Spermophilus undulatus* во время торпора частота сердцебиения может составлять 4–5 ударов в минуту при температуре тела 3–5 °С; при этом давление крови падает, а объем сердечного выброса снижается в 65 раз. При пробуждении суслика частота сердечных сокращений может достигать более 400 уд./мин., что в 2–3

раза выше, чем у активного животного [2, 3]. Адаптация миокарда к таким резким перепадам сократительной активности требует изменений в генной экспрессии, что подтверждается данными по изменению активности многих гибернационно-зависимых генов у зимнеящих [4–7].

Например, в миокарде гибернирующих животных выявлены изменения в экспрессии тяжелых и легких цепей миозина, как на уровне белка [8, 9], так и на уровне мРНК [5, 6]. Методом транскриптомного анализа показана гиперэкспрессия гена тайтина в сердечной мышце сусликов при гибернации [7]. В сердечной мышце гибернирующего медведя *Ursus arctos horribilis* было обнаружено увеличение содержания короткой N2B изоформы тайтина в период спячки [10]. Однако наши ранние исследования выявили увеличение содержания длинной N2BA изоформы в разных отделах сердца зимнеящих сусликов *Spermophilus undulatus* в период гибернации [11].

В этой работе проанализирована экспрессия гена тайтина как на уровне белка, так и на уровне мРНК в миокарде зимнеящих сусликов на протяжении годового цикла.

© 2010 г. Карадулева Е.В., Вихлянцев И.М.,

Тутукина М.Н., Подлубная З.А.

\* Автор для переписки:

Карадулева Е.В.

Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН

142290, Пущино Московской области

## Материалы и методы

В работе были использованы образцы левого желудочка сердечной мышцы зимнеявствующих сусликов *Spermophilus undulatus*, отловленных летом в Якутии и содержащихся в условиях вивария в индивидуальных клетках при естественном фотопериоде. Обеспечение пищей, водой и гнездовым материалом *ad libitum*. Эксперименты проводили на следующих группах животных: активные летние (май-август); активные осенние (сентябрь-начало ноября); входящие в спячку (температура в области сердца  $+30 - +10$  °С), гибернирующие (конец ноября-март, температура в области сердца  $+2 - +5$  °С, продолжительность баута спячки 7–14 суток); пробуждающиеся (температура в области сердца  $+10 - +32$  °С, время пробуждения 1,5–2,5 часа); активные зимние (межбаутная активность после пробуждения от нескольких часов до 2 суток).

ДСН-электрофорез проводили по модифицированной нами методике [12] в вертикальных агарозных гелях с содержанием полиакриламида 2–2,3%. Денситометрию белковых полос в геле осуществляли с помощью компьютерной программы Total Lab 1.11. Количество тайтина оценивалось по отношению к количеству тяжелых цепей миозина.

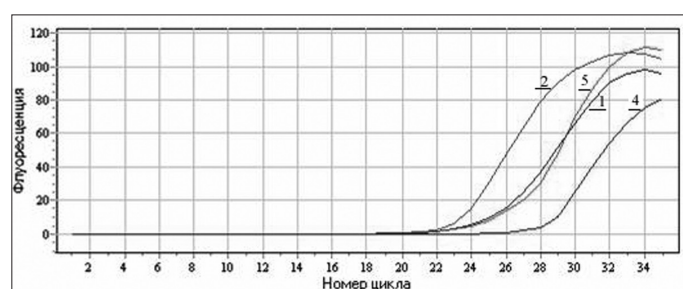
В таблице 2 приведены средние арифметические величины денситометрических соотношений соответствующих белковых полос на гелях и их ошибки. Статистическая значимость различий между выборками рассчитывалась по непараметрическому U-критерию Манна – Уитни ( $*p < 0,05$  и  $**p < 0,01$ ).

Вестерн-блоттинг с использованием моноклональных антител к тайтину выполняли по методике, описанной в работе [13]. В качестве первичных антител использовали: АВ5 (к участку молекулы тайтина, расположенному около М-линии саркомера), 9D10 (к участку молекулы тайтина, расположенному в I-области саркомера). В качестве вторичных антител, конъюгированных с пероксидазой хрена, использовали антитела против IgG мышей («Sigma»). Белковые полосы выявляли с помощью 3,3'-диаминобензидина.

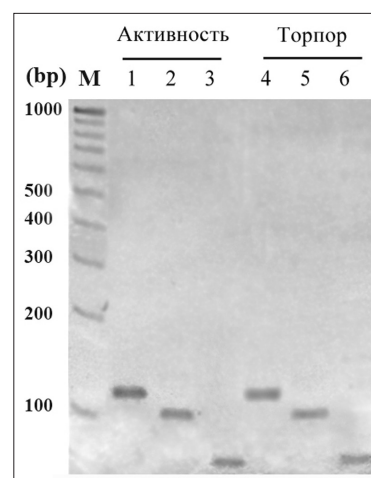
Тотальную фракцию РНК из ткани миокарда выделяли с применением набора Total RNA Fatty and Fibrous Tissue Kit (BIO-RAD, США) согласно протоколу изготовителя. Выравненные по концентрации РНК (100 нг/мкл) использовали для реакции обратной транскрипции, которую проводили с помощью набора MINT-Universal cDNA synthesis kit (Evrogen, Россия). Выделение геномной ДНК для дальнейшего определения

эффективности инициации транскрипции праймерами к гену тайтина (*ttn*) осуществлялось классическим фенол-хлороформным способом [14]. Концентрацию РНК и ДНК измеряли на спектрофотометре NanoDrop-1000 (США). Качество полученных препаратов оценивали электрофоретически в 0,8% агарозном геле.

Реакцию qRT-PCR проводили на приборе DT-322 (ДНК-Технология, Россия), используя набор Tersus PCR kit (Evrogen, Россия) с применением SYBR Green I (Invitrogen, США) в качестве флуоресцентного зонда. Режим амплификации (30–40 циклов) после 2-минутного предварительного плавления кДНК был следующим: 94,0 °С – 20 сек.; 57,0 °С – 20 сек.; 72,0 °С – 20 сек.



А



Б

Рис. 1. Анализ экспрессии *ttn* в миокарде сусликов методом qRT-PCR с красителем SYBR Green I.

А. Зависимость флуоресценции от номера цикла амплификации.

Б. Электрофореграмма ПЦР-продуктов: 1 – N2BA изоформа активного суслика; 2 – N2B изоформа активного суслика; 3 – (N2BA+N2B) изоформы активного суслика; 4 – N2BA-изоформа гибернирующего суслика; 5 – N2B-изоформа гибернирующего суслика; 6 – (N2BA+N2B) изоформы гибернирующего суслика; M1 и M2 – маркеры молекулярных масс

Используемые пары праймеров для ПЦР

Название	Прямой праймер (5'-3')	Обратный праймер (5'-3')	Размер продукта (п.н.)
N2B+N2BA тайтин (экзоны 49–50)	ССААGСТСАСТGTGGGAGAAA	GCTACTTCCAAGGGCTCAATTC	67
N2B изоформа (экзоны 50–219)	ССААСGAGTATGGCAGTGTCA	TGGGTTCAGGCAGTAATTTGC	93
N2BA изоформы (экзоны 107–108)	CGGCAGAGCTCAGAATCGA	GTCAAAGGACACTTCACACTCAAAA	110
$\beta$ -актин	ATGGTGGGTATGGGTCAGAA	СТТТТCACGGTТGGCCTTAG	225

Флуоресцентный сигнал регистрировали в конце каждого цикла в течение 15 секунд (рис. 1). В качестве позитивного контроля использовали пробы, содержащие геномную ДНК из миокарда суслика (наблюдали только ожидаемый продукт), а в качестве негативного – пробы с РНК, проведенные через реакцию обратной транскрипции без добавления фермента (синтез ампликонов отсутствовал).

Количественный анализ уровня экспрессии проводили при помощи программы q\_PCR (ДНК-Технология). Относительное количество синтезированных ампликонов гена *ttn* рассчитывали по методу  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  согласно Livak и Schmittgen [15]. В качестве референса использовали ген  $\beta$ -актина.

Поскольку последовательность гена тайтина суслика неизвестна, то для RT-PCR использовались праймеры, синтезированные на основе последователь-

ности гена тайтина крысы (табл. 1) [16]. В соответствии с опубликованными данными, все изоформы сердечного тайтина крысы содержат экзоны 49 и 50. Для короткой N2B-изоформы тайтина характерен сплайсинг экзонов 50 и 219. Для всех вариантов длинной N2BA-изоформы тайтина характерно наличие экзонов 107 и 108, которые отсутствуют в N2B-изоформе (рис. 2).

ПЦР проводили в 4 повторях для каждой матрицы с двумя разведениями кДНК в каждой повторности. Качество продуктов амплификации определяли разделением в 5% полиакриламидном геле (рис. 1). Все значения экспрессии для различных изоформ тайтина ( $\Delta Ct$ ) рассчитывали отдельно для каждого животного в группе (все состояния гибернационного цикла) и сравнивали между собой как отдельные выборки. Статистическую обработку проводили с применением непараметрического U-критерия Манна – Уитни (\* $p < 0,05$  и \*\* $p < 0,01$ ).

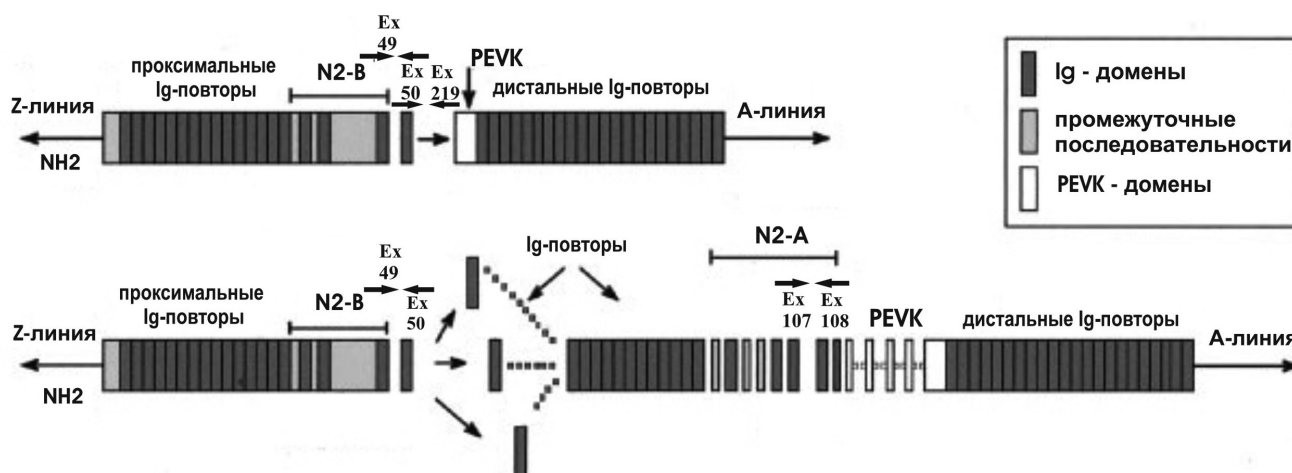


Рис. 2. Эластичная I-зона N2B и N2BA изоформ тайтина в сердце млекопитающих. На рисунке показаны экзоны (Ex), к которым подобраны праймеры для RT-PCR (с модификациями по [16])



**Результаты и обсуждение**

Результаты электрофоретического исследования выявили двукратное увеличение соотношения N2BA/N2B изоформ в миокарде гибернирующих сусликов в сравнении с содержанием этих форм тайтина в сердце активных летних животных (см. табл. 2, рис. 3). При этом доля длинной N2BA изоформы тайтина поддерживается на повышенном уровне в течение всего гибернационного сезона.

Таблица 2

**Сезонные изменения содержания тайтина в левом желудочке сердца сусликов**

Циклы сезонной активности сусликов	N2BA/ТЦМ	N2B/ТЦМ	T2/ТЦМ	N2BA/N2B
Летняя активность, n=12	0,017±0,006	0,086±0,008	0,027±0,006	0,206±0,057
Осенняя активность, n=10	0,026±0,005*	0,085±0,009	0,036±0,008*	0,313±0,058*
Спячка (гибернация), n=12	0,023±0,006	0,056±0,011**	0,024±0,009	0,428±0,144**
Пробуждение (выход из спячки), n=11	0,028±0,003**	0,063±0,010	0,029±0,005	0,454±0,049**
Зимняя активность, n=8	0,035±0,004**	0,081±0,003	0,031±0,003*	0,431±0,038**
Вход в спячку, n=10	0,032±0,003**	0,076±0,007	0,035±0,005*	0,434±0,024**

*Примечание:* приведены средние арифметические величины денситометрических соотношений соответствующих белковых полос на гелях и их ошибки. Статистическая значимость различий между выборками в сравнении с группой активных летних сусликов составила \* $p < 0,05$  и \*\* $p < 0,01$  по U-критерию Манна – Уитни

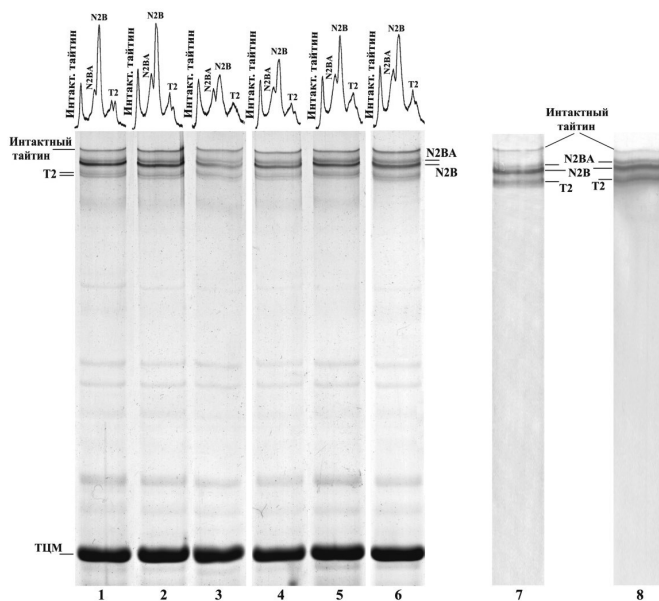


Рис. 3. Сезонные изменения изоформного состава тайтина в левом желудочке сердца сусликов.

Электрофореграммы левого желудочка сердца сусликов: 1 – активный летний суслик; 2 – активный осенний суслик; 3 – спящий (гибернирующий) суслик; 4 – пробуждающийся суслик; 5 – активный зимний суслик (междуавтная активность); 6 – входящий в спячку суслик.

Вестерн-блоттинг с антителами АВ5 к тайтину: 7 – активный летний суслик; 8 – спящий (гибернирующий) суслик.

Белковые полосы: ТЦМ – тяжелые цепи миозина; T2 – протеолитические фрагменты тайтина; N2B и N2BA – изоформы тайтина; Интакт.Т – высокомолекулярные формы тайтина, которые, по данным электрофоретических исследований и Вестерн-блоттинга, могут являться интактными изоформами этого белка [13]

В чем физиологический смысл обнаруженной нами перестройки тайтинового фенотипа в сердце сусликов при гибернации?

Длинная (N2BA) и короткая (N2B) изоформы тайтина за счет отличий в структурных характеристиках (см. рис. 2) работают в саркомере как пружины разной жесткости, развивая неодинаковые уровни пассивного напряжения.

Известно, что преобладание длинной N2BA изоформы тайтина определяет большую степень эластичности и, следовательно, растяжимости миокардиальной ткани, что увеличивает силу сердечных сокращений по закону Франка – Старлинга [17]. Мы полагаем, что увеличение доли длинной N2BA изоформы тайтина в сердечной мышце гибернирующих сусликов имеет

адаптационную природу и направлено на облегчение выброса более вязкой крови из камер сердца в период гибернации.

Однако, проанализировав общее количество тайтина в миокарде сусликов при спячке, было выявлено снижение в 1,2–1,4 раза относительного содержания его N2B и N2BA изоформ, а также в 1,5–2 раза — относительного содержания T2-фрагментов в сравнении с количеством этих белков у активных животных (см. табл. 2, рис. 3).

Чем может быть вызвано подобное снижение содержания тайтина, если известно, что протеазная активность в протеосомах ингибируется при низких температурах торпора [18]? Мы предполагаем, что уменьшение количества тайтина может происходить в результате протеолиза  $Ca^{2+}$ -зависимыми протеазами — кальпаинами [19].

При этом пул тайтина, по всей вероятности, не пополняется по причине ингибирования трансляции [20], что можно рассматривать как адаптацию для минимизации энергетических затрат в этот период. Подавление синтеза белка при спячке может достигаться различными путями: дефицитом самой матрицы РНК [6], инактивацией факторов инициации (eIF-2) и элонгации (eEF-2) путем обратимого фосфорилирования [20, 21], а также уменьшением фракции полисом [22].

При пробуждении суслика количество полисом увеличивается, что соответствует активации биосинтеза белка [1, 23]. Эти данные находятся в согласии с нашими результатами, показывающими увеличение содержания N2B и N2BA изоформ тайтина в миокарде сусликов при пробуждении (см. табл. 2, рис. 3).

Таким образом, в течение межбугорной активности наблюдается полное восстановление количества тайтина. При этом в периоды пробуждения и межбугорной активности наблюдается увеличение содержания T2-фрагмента в миокарде сусликов (см. табл. 2, рис. 3), что указывает на ускоренный оборот (турновер) тайтина в эти периоды.

Поэтому межбугорные пробуждения имеют большое значение в обновлении пула тайтина для поддержания его нормального уровня в миокарде сусликов на протяжении всего гибернационного сезона. Причем повышенное содержание N2BA изоформы в миокарде сусликов сохраняется и на стадии пробуждения, что может адаптировать работу сердечной мышцы к повышенной нагрузке в период выхода животного из спячки, когда частота сердечных сокращений достигает более 400 уд./мин.

В какой же период годового цикла происходит дополнительная наработка N2BA изоформы тайтина, преобладание которой мы наблюдаем в течение всего гибернационного сезона?

Учитывая, что трансляция является крайне энергозатратным процессом и тормозится в период гибернации [6], мы предположили, что повышенный синтез N2BA изоформы тайтина может происходить в период осенней активности при подготовке суслика к спячке, что и было подтверждено в наших исследованиях (см. табл. 2). Более того, на электрофореграммах левого желудочка сердца осенних активных сусликов при их подготовке к спячке отмечалось появление двух вариантов N2BA изоформы тайтина, что также свидетельствует об активной перестройке тайтинового фенотипа в этот период (рис. 4).

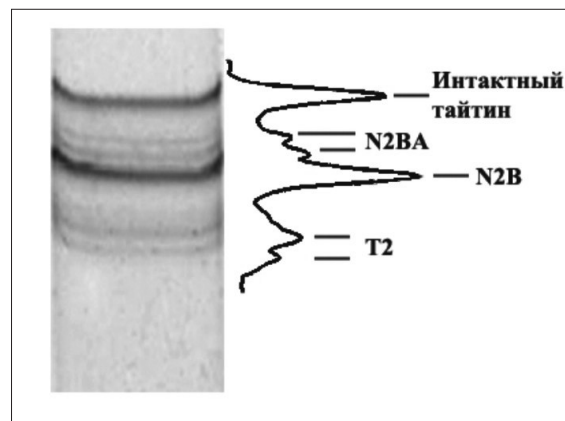


Рис. 4. Варианты длинной N2BA изоформы тайтина в миокарде осенних активных сусликов

Исходя из вышесказанного, мы предположили, что для обеспечения повышенного синтеза длинной N2BA изоформы тайтина в миокарде осенних активных сусликов потребуется увеличить количество ее мРНК через активацию транскрипции. Однако, к нашему удивлению, результаты количественной ПЦР показали снижение содержания мРНК обеих изоформ тайтина в 7 раз в миокарде осенних активных сусликов (рис. 5). Эти результаты могут указывать на ускоренный оборот мРНК, а также на подавление процесса транскрипции в этот период, что необходимо для экономного расхода АТФ в процессе подготовки суслика к погружению в торпидное состояние. Поскольку не было обнаружено изменений в соотношении мРНК изоформ тайтина в миокарде при подготовке к спячке и в течение всего гибернационного сезона, напрашивается вывод о различной эффективности трансляции N2B и N2BA изоформ. Для проверки этого предположения необходимы дальнейшие исследования.

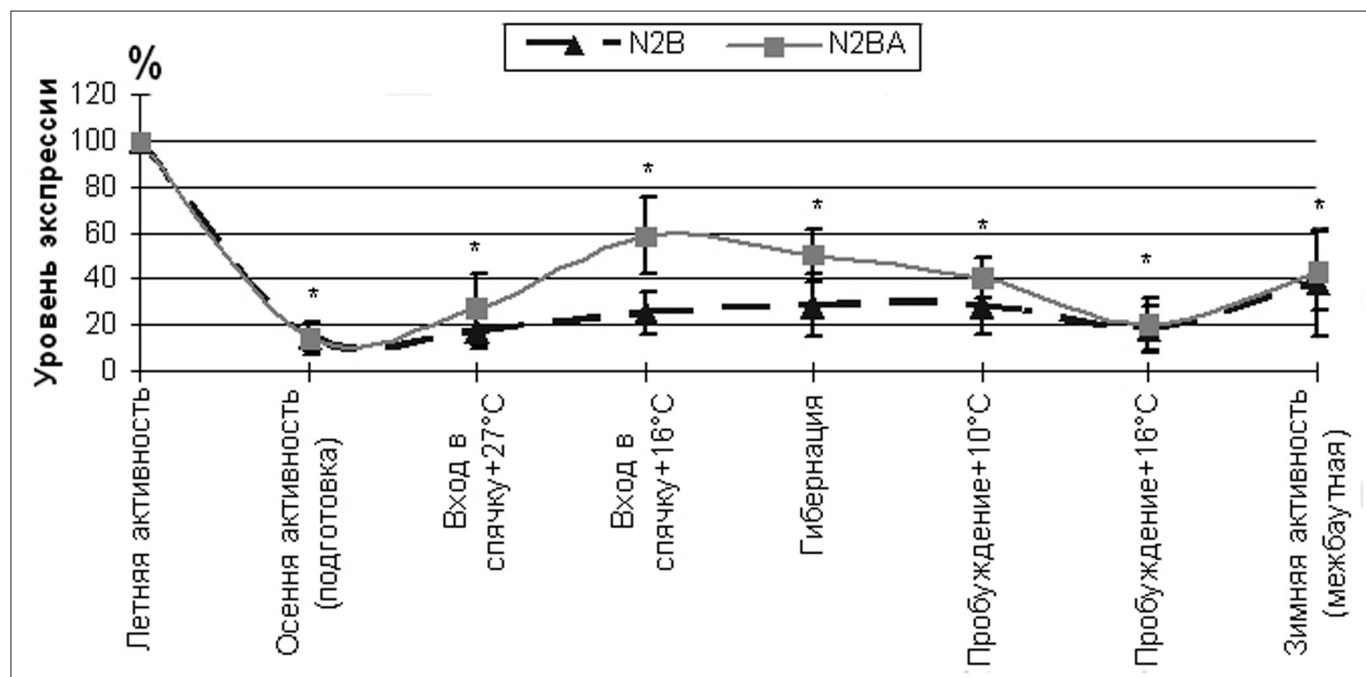


Рис. 5. Изменение уровня экспрессии N2B и N2BA изоформ тайтина в левом желудочке сердца зимнеявляющихся сусликов в разные периоды годового цикла (количество животных в каждой группе  $n=4$ ). Статистическая значимость различий между выборками в сравнении с группой активных летних сусликов составила  $*p < 0,05$  по U-критерию Манна – Уитни

Проанализировав содержание мРНК N2B и N2BA изоформ тайтина во всех фазах гибернационного сезона, мы также выявили снижение их содержания в сердце сусликов в среднем в 3–5 раз (рис. 5), что согласуется с данными об ингибировании транскрипционной активности в разных тканях сусликов и летучих мышей при гибернации [6, 24]. Отсутствие достоверных отличий в содержании мРНК сердечных изоформ тайтина между различными стадиями гибернационного сезона может свидетельствовать о поддержании стабильного уровня мРНК тайтина в эти периоды. Стабильный уровень мРНК тайтина в течение зимней спячки может достигаться защитой РНК-транскриптов от расщепления с помощью РНК-связывающих белков, а также преобладанием популяции мРНК с длинными poly(A)-хвостами, которые ее стабилизируют [22]. По-видимому, сохранение стабильного уровня мРНК в сезон гибернации требуется для быстрого возобновления синтеза белка при пробуждении [23, 25], что подтверждается нашими данными о восстановлении содержания тайтина в миокарде сусликов в этот период (см. табл. 2, рис 3). На активный синтез тайтина в сердечной мышце сусликов во время выхода животного из спячки могут указывать данные о появлении дополнительного варианта N2BA изоформы тайтина (см. рис. 4) на электрофореграммах левого желудочка сердца пробуждающихся сусликов.

## Заключение

Таким образом, сезонные изменения в экспрессии тайтина в миокарде зимнеявляющихся сусликов *Spermophilus undulatus* направлены на увеличение доли длинной N2BA изоформы тайтина в период подготовки животного к спячке и на поддержание ее повышенного уровня в течение всего гибернационного сезона. Эта перестройка тайтинового фенотипа вносит вклад в увеличение пластичности сердечной мышцы сусликов в период гибернации, что позволяет им пережить экстремальные условия спячки и выйти из нее без патологических последствий. Обнаруженное подавление процесса транскрипции тайтина в миокарде сусликов в течение гибернационного сезона можно рассматривать как адаптацию для минимизации энергетических затрат во время гибернации.

Выражаем благодарность заведующему лабораторией функциональной геномики и клеточного стресса Института биофизики клетки РАН профессору, д.б.н. О.Н. Озолинь и ее сотрудникам за ценные советы и оказание технической помощи, а также благодарим Л.А. Цховребову за антитела к тайтину.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №10-04-00141, Программы Прези-

диума РАН «Фундаментальные науки — медицине» и Государственными контрактами № 02.740.11.0301 и № 02.740.11.0710.

### Литература:

1. Frank van Breukelen and Sandra L. Martin. Molecular Biology of Thermoregulation Invited Review: Molecular adaptations in mammalian hibernators: unique adaptations or generalized responses? // *Journal of Applied Physiology*. — 2002. — Vol. 92. — N 6. — P. 2640–2647.
2. Калабухов Н.И. Спячка млекопитающих. — М.: Наука, 1985. — 260 с.
3. Игнатьев Д.А., Сухова Г.С., Сухов В.П. Анализ изменений частоты сердцебиений и температуры суслика *Citellus undulatus* в различных физиологических состояниях // *Журн. общ. биологии*. — 2001. — Т. 62. — № 1. — С. 66–77.
4. Belke D.D., Wang L.C., and Lopaschuk G.D. Acetyl-CoA carboxylase control of fatty acid oxidation in hearts from hibernating Richardson's ground squirrels // *Biochimica et Biophysica Acta*. — 1998. — Vol. 1391. — N 1. — P. 25–36.
5. Fahlman A, Storey J.M., and Storey K.B. Gene up-regulation in heart during mammalian hibernation. // *Cryobiology*. — 2000. — Vol. 40. — N 4. — P. 332–342.
6. Hypoxia: Through the Lifecycle / Ed. by R.C. Roach et al. / Chapter № 3. Kenneth B. Storey. Mammalian hibernation: transcriptional and translational controls. — New York, 2003. — P. 21–38.
7. Brauch K.M., Dhruv N.D., Hanse E.A., and Andrews M.T. Digital transcriptome analysis indicates adaptive mechanisms in the heart of a hibernating mammal // *Physiological Genomics*. — 2005. — Vol. 23. — N 2. — P. 227–234.
8. Morano I., Adler K., Agostini B., Hasselbach W. Expression of myosin heavy and light chains and phosphorylation of the phosphorylatable myosin light chain in the heart ventricle of the European hamster during hibernation and in summer // *Journal of Muscle Research and Cell Motility*. — 1992. — Vol. 13. — N 1. — P. 64–70.
9. Зуйкова О.В., Осипова Д.А., Вихлянцева И.М. и др. Легкие цепи миозина скелетных и сердечных мышц суслика *Citellus undulatus* в разные периоды зимней спячки // *Биофизика*. — 2005. — Т. 50. — № 5. — С. 797–802.
10. Nelson O.L., Robbins C.T., Wu Y., Granzier H. Titin isoform switching is a major cardiac adaptive response in hibernating grizzly bears // *AJP — Heart and Circulatory Physiology*. — 2008. — Vol. 295. — N 1. — P. 366–371.
11. Вихлянцева И.М., Карадулева Е.В., Подлубная Э.А. Сезонные изменения изоформного состава тайтина в мышцах зимнеспящих сусликов // *Биофизика*. — 2008. — Т. 53. — № 6. — С. 1066–1072.
12. Вихлянцева И.М., Подлубная Э.А., Карадулева Е.В. и др. Изменения изоформного состава тайтина в сердечной мышце спонтанно-гипертензивных крыс и его восстановление после курса низкоинтенсивного красно-оранжевого облучения // *Доклады АН*. — 2007. — Т. 417. — № 3. — С. 403–406.
13. Вихлянцева И.М., Подлубная Э.А. Изоформный состав тайтина в мышцах при патологических процессах // *Биофизика*. — 2008. — Т. 53. — № 6. — С. 1058–1065.
14. Maniatis T., Fritsch E.F., and Sambrook J. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*: Cold Spring Harbor Laboratory. — Cold Spring Harbor, New York, 1982.
15. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method // *Methods*. — 2001. — Vol. 25. — N 4. — P. 402–408.
16. Opitz C.A., Leake M.C., Makarenko I., et al. Developmentally regulated switching of titin size alters myofibrillar stiffness in the perinatal heart // *Circulation Research*. — 2004. — Vol. 94. — P. 967–975.
17. Cazorla O., Freiburg A., Helmes M., et al. Differential expression of cardiac titin isoforms and modulation of cellular stiffness // *Circulation Research*. — 2000. — Vol. 86. — N 1. — P. 59–67.
18. Velickovska V., Lloyd B.P., Safdar Qureshi, Frank van Breukelen. Proteolysis is depressed during torpor in hibernators at the level of the 20S core protease // *J. Comp. Physiology B*. — 2005. — Vol. 175. — N 5. — P. 329–335.
19. Goll D.E., Neti G., Mares S.W., Thompson V.F. Myofibrillar protein turnover: the proteasome and the calpains // *Journal of Animal Science*. — 2008. — Vol. 86 (E. Suppl.). — P. E19–E35.
20. Frerichs K.U., Smith C.B., Brenner M., et al. Suppression of protein synthesis in brain during hibernation involves inhibition of protein initiation and elongation // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. — 1998. — Vol. 95. — N 24. — P. 14511–14516.
21. Chen Y., Matsushita M., Nairn A.C., et al. Mechanisms for increased levels of phosphorylation of elongation factor-2 during hibernation in ground squirrels // *Biochemistry*. — 2001. — Vol. 40. — N 38. — P. 11565–11570.
22. Knight J.E., Narus E.N., Martin S.L., et al. mRNA stability and polysome loss in hibernating arctic ground squirrels (*Spermophilus parryi*) // *Molecular and Cellular Biology*. — 2000. — Vol. 20. — N 17. — P. 6374–6379.
23. Жегунов Г.Ф., Микулинский Ю.Е. Активация синтеза белка в тканях сусликов при пробуждении после зимней спячки // *Украинский биохимический журнал*. — 1987. — Т. 59. — № 3. — С. 69–73.
24. Carey H.V. and Martin S.L. Preservation of intestinal gene expression during hibernation // *AJP — Gastrointestinal and Liver Physiology*. — 1996. — Vol. 271. — P. G805–G813.
25. Epperson L.E. and Martin S.L. Quantitative assessment of ground squirrel RNA levels in multiple stages of hibernation. // *Physiological genomics*. — 2002. — Vol. 10. — N 2. — P. 93–102.

## SEASONAL CHANGES IN THE EXPRESSION OF N2B AND N2BA TITIN ISOFORMS IN THE MYOCARDIUM OF HIBERNATING GROUND SQUIRRELS *SPERMOPHILUS UNDULATUS*

E.V. KARADULEVA<sup>1</sup>, I.M. VIHLYANTSEV<sup>1</sup>, M.N. TUTUKINA<sup>2</sup>, Z. PODLUBNAYA<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> *Establishment of the Russian Academy of Sciences Institute of Theoretical and Experimental Biophysics;*

<sup>2</sup> *Establishment of the Russian Academy of Sciences Institute of Cell Biophysics;*

<sup>3</sup> *Pushchino State University, Pushchino, Moscow Region*

A study of seasonal changes in the expression of N2B and N2BA titin isoforms at the level of protein and mRNA in the myocardium of ground squirrels (*Spermophilus undulatus*) during different periods of the annual cycle: summer activities, fall activities (preparing for hibernation), hibernation, awakening, winter activity (interbout activity), entrance into hibernation. In the myocardium of active ground squirrels, autumn showed an increased (1.5–2 times) shares N2BA titin isoforms in relation to its N2B isoform in comparison with their content in cardiac muscle of summer active animals. During the period of hibernation in the myocardium of ground squirrels has been a slight decrease in the number of titin, which was restored on waking animal. The increase in the ratio of titin isoforms N2BA/N2B persisted throughout hibernation season. For the first time in the cardiac muscle electrophoregrams awakening and autumn active ground squirrels revealed double bands N2BA isoforms of titin. At the level of mRNA expression of cardiac titin isoforms was reduced an average of 5 times in all phases hibernation season, as well as in the autumn prehibernation activity compared with the control expression level of summer active animals. The observed seasonal changes in the expression of titin isoforms are discussed in the context of adaptation to hibernation ground squirrels.

*Keywords:* titin gene expression, N2B and N2BA titin isoforms, hibernation.

## ГЕНОТИПИРОВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ СЕМЕЙСТВА LACTOBACILLACEAE РОДОВ STREPTOCOCCUS, LACTOCOCCUS, ENTEROCOCCUS, WEISSELLA МЕТОДОМ ПЦР-ПДРФ

В.Н. АФОНЮШКИН<sup>1\*</sup>, М.А. ТИТОВА<sup>1</sup>, В.Ю. КОПТЕВ<sup>1</sup>,  
Н.А. ШКИЛЬ<sup>1</sup>, М.Л. ФИЛИППЕНКО<sup>2</sup>, Е.В. ДУДАРЕВА<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт экспериментальной ветеринарии

Сибири и Дальнего Востока Россельхозакадемии, Новосибирская область;

<sup>2</sup> Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

Представлены результаты генотипирования представителей таксона *Lactobacillales* методом ПЦР-ПДРФ с использованием оригинальных праймеров. Получены данные о видовом разнообразии природных изолятов молочнокислых бактерий родов *Streptococcus* (в том числе *Enterococcus*) и *Lactococcus* путем анализа фрагментов рестрикции ПЦР-продукта. Предложена пара праймеров, обеспечивающих амплификацию варибельного региона межгенного спейсера 16-23s рибосомальной РНК у широкого спектра видов бактерий таксона *Lactobacillales*. Рассмотрена также методика подготовки ДНК для ПЦР-ПДРФ.

**Ключевые слова:** стрептококковая инфекция, энтерококки, лактобактерии, видовая идентификация, рестрикция и ПЦР-ПДРФ, генетический полиморфизм.

### Введение

Представители таксона *Lactobacillales* входят в состав семейств *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae*, *Leuconostoc*, имеющих огромное значение для ветеринарной медицины.

Расширяется спектр известных нам полезных свойств лактобактерий, что привлекает внимание биотехнологов ввиду их перспективности для исследований по созданию пробиотиков [1–4].

Представители лактобактерий применяются в качестве антиоксидантов, а также как средства, снижающие активность липидной пероксидазы, стимулируя таким образом рост нормальной микрофлоры организма. В частности, после длительного курса антибиотикотерапии назначение лактобактерий (*pro*) способствует коррекции нормофлоры [5, 6].

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 [2, 7]. В связи с тем, что видовые характеристики по вышеупомянутым показателям широко варьируют, определение видового состава нормофлоры важно для прогнозирования устойчивости популяции сельскохозяйственных животных к инфекциям.

Многие представители рода *Streptococcus* входят в состав нормальной микрофлоры дыхательных, мочевыводящих, половых путей и желудочно-кишечного тракта, но некоторые из видов имеют важное значение как возбудители стрептококковых инфекций.

Стрептококковая инфекция относится к числу наиболее распространенных заболеваний бактериальной природы, особенность которой заключается в многообразии клинических форм. Широкий спектр проявлений (острое и хроническое носительство стрептококка, стертые и выраженные заболевания), высокая восприимчивость к возбудителю способствуют эпизоотическому распространению стрептококкозов. Энтерококки (представители рода *Streptococcus*) входят в состав нормальной микрофлоры пищеварительного тракта человека и животных. Они одни из первых колонизируют слизистую оболочку кишечника и в норме обнаруживаются во всех отделах пищеварительного тракта здорового организма, играя

© 2010 г. Афонюшкин В.Н., Титова М.А., Коптев В.Ю., Шкиль Н.А., Филиппенко М.Л., Дударева Е.В.

\* Автор для переписки:

Афонюшкин Василий Николаевич,  
кандидат биологических наук, старший научный сотрудник  
лаборатории болезней птиц ГНУ ИЭВСиДВ Россельхозакадемии  
630501 Новосибирская обл., Новосибирский р-н,  
раб. пос. Краснообск, а/я 8  
Тел./факс: (383) 348-39-31,  
E-mail: lisocim@mail.ru

важную роль в обеспечении колонизационной резистентности слизистых. При этом, являясь представителями группы условно-патогенных бактерий, способны вызывать аутоинфекцию, а при накоплении в окружающей среде — приводить к экзогенному инфицированию [8, 9].

Цель настоящего исследования — разработать универсальный метод идентификации представителей таксона *Lactobacillales* на основе ПЦР-ПДРФ (полимеразная цепная реакция — полиморфизм длины рестрикционных фрагментов).

### Материалы и методы

В исследовании использовали 70 полевых изолятов культур из желудочно-кишечного тракта и патологического материала от сельскохозяйственных животных и птиц различных видов.

Изоляцию лактобактерий, энтерококков, вейсселл из кишечного содержимого производили на среде MRS (Rogosa and Sharpe medium), URI-select 4; стрептококков из проб патологического материала выделяли с использованием кровяного агара с содержанием 1% глюкозы. Количественное определение лактобактерий в кишечном содержимом осуществляли методом серийных разведений навески кишечного содержимого слепой кишки с последующим высевом на среду MRS. Также использовали полуколичественную ПЦР, основанную на методе конкурентного ингибирования с раститрованным внутренним контролем (набор производства фирмы «БиоКом»).

Принадлежность бактерий к родам *Lactobacillus*, *Streptococcus* (в том числе *Enterococcus*) определяли по культуральным, морфологическим и биохимическим критериям [4, 10].

Видовую идентификацию проводили на основе культуральных, морфологических, тинкториальных характеристик и результатов секвенирования межгенного спейсера 16-23s рРНК (рибосомальной РНК), а также на основе ПЦР-ПДРФ.

Для типирования был выбран межгенный спейсер 16-23s рРНК, сконструированы праймеры L516SF 5'-TCGCTAGTAATCGCGGATCAGC-3' Tm68, L523SR 5'-GCATATCGGTGTTAGTCCCGTCC-3' Tm68, сайты отжига которых ограничивают полиморфный участок спейсера. Амплификацию проводили в 25 мкл буфера, содержащего 50 mM Tris-HCl (pH 8,6), 50 mM KCl, 0,05% Tween 20, 2,4 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 мкМ dNTP, 1 мкМ праймера, 1 ед. акт. Taq ДНК-полимеразы в следующем режиме: денатурация — 3 мин. на первом

цикле и 10 сек. на последующих 40 циклах при 95 °С; отжиг — 10 сек. при 62 °С; элонгация — 10 сек. при 72 °С. Амплификацию проводили на ДНК-амплификаторе «Терцик» фирмы «ДНК-технология».

Наличие продукта амплификации проверяли электрофорезом в 6% ПААГ с последующей визуализацией ДНК бромистым этидием.

Далее продукт амплификации подвергали гидролизу эндонуклеазами рестрикции: RsaI (GT<sup>^</sup>AC), Ttu 91 (T<sup>^</sup>TAA) и Sse 91 (<sup>^</sup>AATT) («Сибэнзим», Россия).

В одной серии гидролиз проводили 3 ч в 20 мкл с использованием 10 мкл амплификационной смеси. На каждую реакцию брали по 2 ед. акт. эндонуклеазы рестрикции Ttu 91 и инкубировали при 65 °С. Далее продукты рестрикции анализировали в 6% ПААГ с последующей визуализацией ДНК бромистым этидием. На рисунке 1 показана типичная картина гидролиза эндонуклеазой рестрикции Ttu 91 («Сибэнзим», Россия).

В другой серии гидролиз проводили 3 ч в 20 мкл с использованием 10 мкл амплификационной смеси. На каждую реакцию брали по 2 ед. акт. эндонуклеазы рестрикции RsaI и инкубировали при 37 °С. Далее продукты рестрикции анализировали в 6% ПААГ с последующей визуализацией ДНК бромистым этидием. На рисунках 1–3 показана типичная картина гидролиза эндонуклеазой рестрикции Ttu 91, RsaI, Sse 91, соответственно.

Секвенирование гена 16S рНК проводили на приборе ABI3100 «Applied Biosystem».

### Результаты и их обсуждение

В процессе исследований был получен следующий протокол типирования микроорганизмов.

Культуры, используемые для ПЦР-ПДРФ анализа (см. рис. 1–3), являются представителями нормофлоры кишечника сельскохозяйственной птицы (куры, индейки, перепелки, утки). Часть культур была идентифицирована на основании результатов секвенирования межгенного спейсера 16-23s рРНК, и эти результаты совпали с результатами ПЦР-ПДРФ типирования. Однако для части представителей лактофлоры кишечника перепелок, уток и индеек не удалось установить видовую принадлежность ввиду отсутствия в международных базах данных информации об этих микроорганизмах. *Weissella thailandensis*, по имеющимся у нас данным литературы, была выделена впервые из желудочно-кишечного тракта индеек.

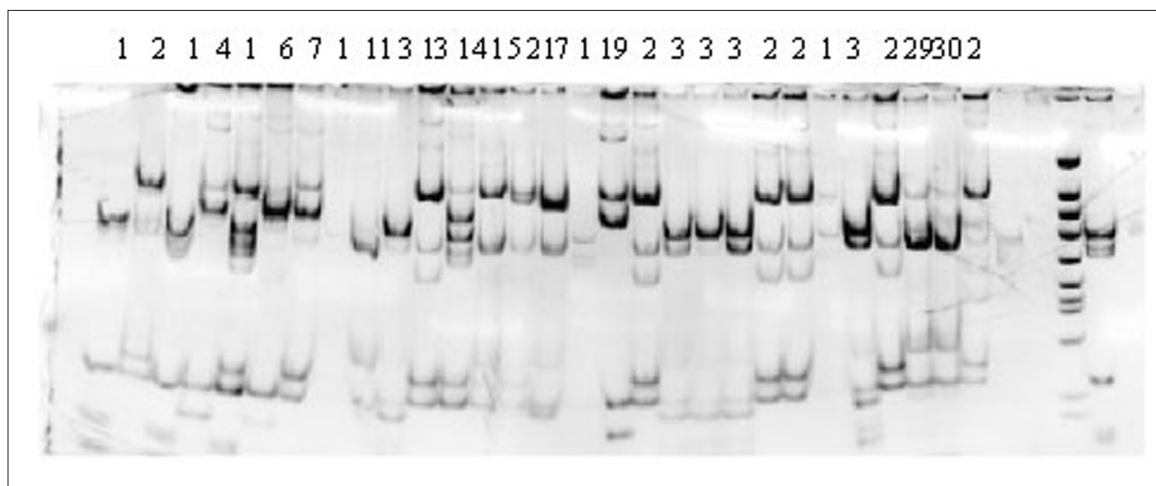


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов гидролиза Tfu 91. Примечание: 1 – *L. reuteri*; 2 – *E. faecium*; 13 – *W. thailandensis*; 3 – *L. salivarius*; остальные цифры – неидентифицированные виды

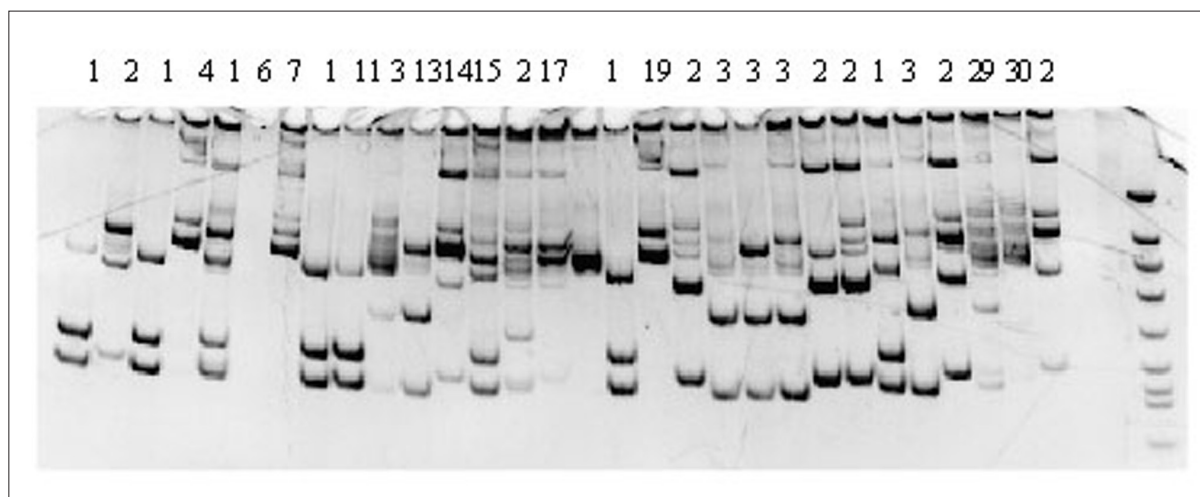


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов гидролиза Rsa I. Примечание: 1 – *L. reuteri*; 2 – *E. faecium*; 13 – *W. thailandensis*; 3 – *L. salivarius*; остальные цифры – неидентифицированные виды

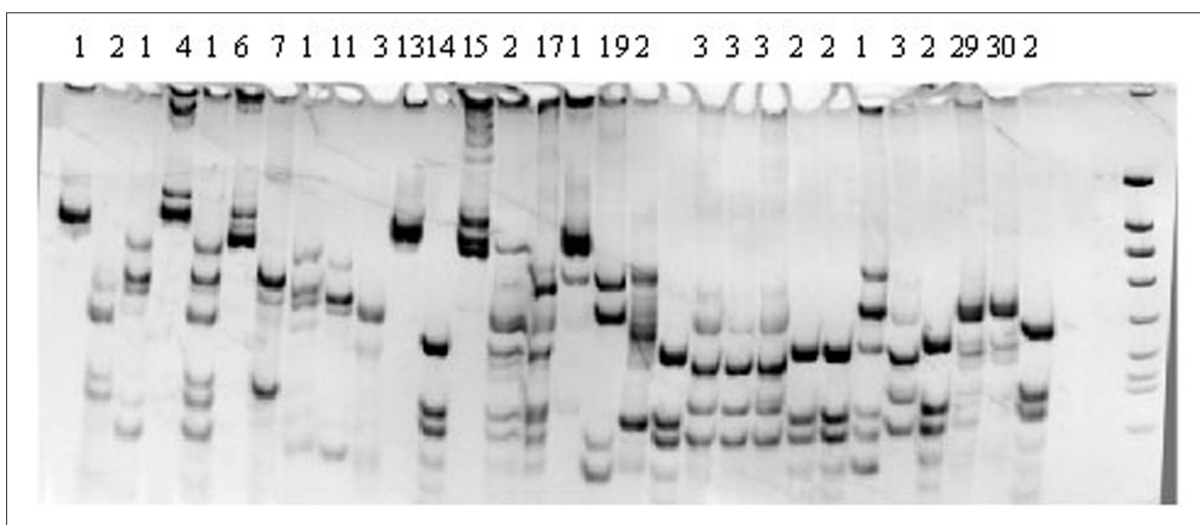


Рис. 3. Электрофореграмма продуктов гидролиза Sse 91. Примечание: 1 – *L. reuteri*; 2 – *E. faecium*; 13 – *W. thailandensis*; 3 – *L. salivarius*; остальные цифры – неидентифицированные виды



Симуляция гидролиза эндонуклеазами рестрикции для *Lactobacillus* была сделана с помощью программы Vector NTI (рис. 4). Как следует из рисунка 4, результаты гидролиза ПЦР-продукта межгенного спейсера 16-23s рРНК совпадают с результатами моделирования реакции с геномными ДНК *L. Reuteri*, *L. salivarius* (GenBank).

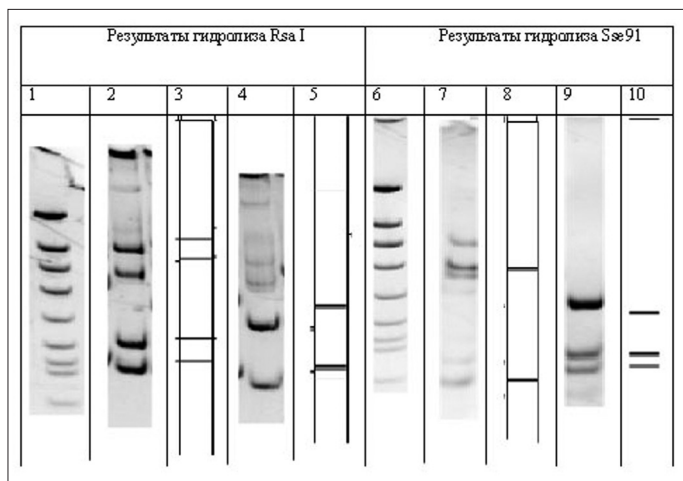


Рис. 4. Симуляция электрофореза продуктов гидролиза эндонуклеазой рестрикции.

Примечание: RsaI при амплификации различных видов *Lactobacillus* (программа «Vector NTI»): Трек 1 – маркер; 2 – *L. reuteri*; 3 – *L. reuteri* (результаты моделирования); 4 – *L. salivarius*; 5 – *L. salivarius* (результаты моделирования); 6 – маркер; 7 – *L. reuteri*; 8 – *L. reuteri* (результаты моделирования); 9 – *L. salivarius*; 10 – *L. salivarius* (результаты моделирования)

Основных представителей лактобактерий кур *L. reuteri*, *L. salivarius* можно успешно идентифицировать с использованием рестриктазы RsaI при ПЦР-ПДРФ анализе (рис. 5).

Получены данные о видовом разнообразии природных изолятов молочнокислых бактерий родов *Streptococcus* (в том числе *Enterococcus*) и *Lactococcus* путем анализа фрагментов рестрикции ПЦР-продукта. При использовании методов рестрикции и гелеэлектрофореза (ПЦР-ПДРФ) в сравнительном анализе подобия нуклеотидных последовательностей показана вариабельность изученных штаммов по величине фрагментов рестрикции и размерам их геномов.

В ряде случаев требуется использование нескольких рестриктаз, например, для идентификации энтерококков и стрептококков (см. рис. 5, табл. 1). Все изученные штаммы обнаруживают высокую степень гомологии нуклеотидных последовательностей гена 16-23s рРНК.

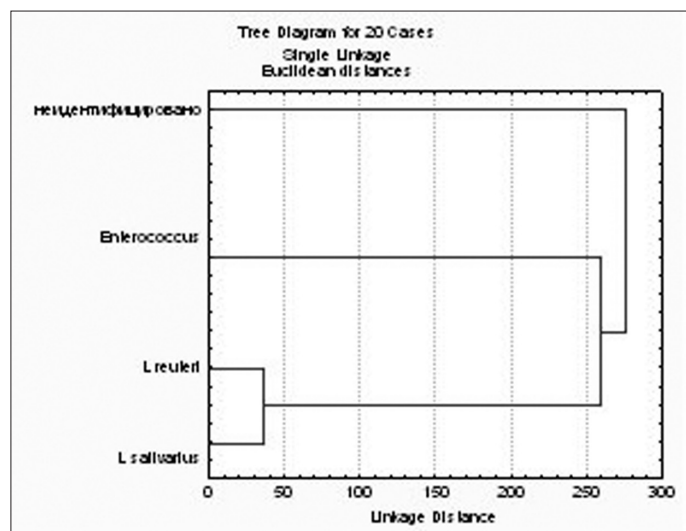


Рис.5. Дендрограмма по фрагментам рестрикции Rsa I

Различие между минимальным и максимальным значениями размера фрагментов рестрикции составляет около 500 п.н., что свидетельствует о генетическом полиморфизме бактерий различных видов семейства *Streptococcaceae*. Это существенно дополняет представления о типовой характеристике циркулирующих штаммов стрептококков и расширяет возможности изучения особенностей течения инфекционного процесса.

### Заключение

На основании исследования делаются выводы:

- Предложенные праймеры обеспечивают возможность типирования лактобактерий, вейселл, стрептококков и энтерококков методом ПЦР-ПДРФ.
- Предложенная пара праймеров обеспечивает амплификацию вариабельного региона межгенного спейсера 16-23s рибосомальной РНК у широкого спектра видов бактерий таксона *Lactobacillales* – лактобактерий, вейселл, энтерококков и стрептококков. В то же время отсутствие реакций на геномную ДНК *E. coli* и других, менее родственных микроорганизмов значительно снижает риски неспецифических реакций при проведении секвенирования амплификационного фрагмента или ПЦР-ПДРФ анализа, обусловленные контаминацией ДНК из проб биоматериала или препаратов ДНК-полимеразы.
- Размер фрагментов рестрикции у исследованных штаммов сильно варьирует – от 5 до 547 п.н.
- Близкое родство таких эпизоотически и эпидемиически семейств, как *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae* и *Leuconostoc*, создает предпосылки для создания универсальных методов их идентификации.

**Размеры фрагментов рестрикции ПЦР-продукта  
с помощью рестриктаз Sse 91, Rsa I, Alu I (п.н.)  
для различных видов семейства Streptococcaceae**

Наименование штаммов	n	Sse91				Rsa I				Alu I		
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3
<i>Str. galloliticus</i> UCN 34	1	369	147	18	10	499	53	—	—	277	270	5
<i>Str. suis</i> P 1/7	1	303	239	127	103	192	186	183	170	422	266	91
<i>Str. suis</i> BM 407, 052YH33, SC 84, GZ1	4	239	202	127	103	192	183	170	85	412	266	5
<i>Str. agalactiae</i> 260 3 V/R	1	348	180	18	14	507	53	—	—	288	267	5
<i>Str. pyogenes</i> MGA S5005	1	439	79	64	18	547	53	—	—	331	264	5
<i>Str. pyogenes</i> NZ131, SSI/1	2	439	180	64	18	648	53	—	—	432	246	5
<i>Str. dysgalactiae</i> <i>equisimitis</i>	1	366	166	18	16	356	157	53	—	292	267	5
<i>Str. pneumoniae</i> 70585	1	360	166	—	—	473	53	—	—	263	258	5
<i>Str. pneumoniae</i> ATCC 700669	1	360	162	—	—	469	53	—	—	263	254	5
<i>Str. pneumoniae</i> JJA, P1031	2	360	165	—	—	472	53	—	—	263	257	5

## Литература

1. Горская Е.М., Лизько Н.Н., Лецнер А.А. и др. Биологическая характеристика штаммов лактобацилл, перспективных в качестве эубиотиков // Журн. микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. — 1992. — № 3. — С. 17–21.
2. Дудикова Г.Н. Биотехнологические основы использования лактобацилл для защиты зернопродуктов от бактериальной контаминации. Дисс. на соискание уч. ст. доктора биол. наук. — Алматы, 2002. — С. 75.
3. Квасников Е.И., Нестеренко О.А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. — М.: Наука, 1975. — С. 89.
4. 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.
5. 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.
6. Лихачева А.Ю. Биологические свойства лактобацилл и тест-системы для их идентификации. Дисс. на соискание уч. ст. канд. мед. наук. — Н. Новгород, 1992. — С. 57.
7. Лыкова Е.А. Антибактериальная резистентность штаммов, входящих в состав препаратов пробиотиков // Микробиол. журн. — 2000. — № 2. — С. 63–65.
8. Бондаренко В.М., Суворов А.Н. Симбиотические энтерококки и проблема энтерококковой оппортунистической инфекции. — М., 2007. — 30 с.
9. Benyacoub J., Czarniecki-Maulden G., Cavadini C. et al. Functional and safety aspects / In: International Symposium on Enterococci in Foods. — Berlin, Germany, 2002. — P. 23–29.
10. Брико Н.И., Ещина А.С., Рянис Л.А. Выделение и идентификация стрептококков. — М.: Хризостом, 2002. — 82 с.

## GENOTYPING OF MICROORGANISMS OF THE FAMILY LACTOBACILLACEAE GENERA STREPTOCOCCUS, LACTOCOCCUS, ENTEROCOCCUS, WEISSELLA BY PCR-RFLP METHOD

V.N. AFONYUSHKIN<sup>1</sup>, M.A. TITOVA<sup>1</sup>, V.Y. KOPTEV<sup>1</sup>,  
N.A. SHKIL<sup>1</sup>, M.L. FILIPPENKO<sup>2</sup>, E.V. DUDAREVA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Experimental Veterinary Medicine Siberia and the Far East, RAAS, Novosibirsk region;

<sup>2</sup> Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk

Presents the results of genotyping of representatives taxon *Lactobacillales* by PCR-RFLP method using the original primers. The data on species diversity of natural isolates of lactic acid bacteria genera *Streptococcus* (including *Enterococcus*) and *Lactococcus* by analysis of restriction fragment PCR product. We propose a pair of primers to ensure amplification of the variable intergenic spacer region in 16S-23S ribosomal RNA from a wide range of bacterial species taxon *Lactobacillales*. We also consider the method of preparation of DNA for PCR-RFLP.

**Keywords:** streptococcal infection, *Enterococci*, *Lactobacilli*, species identification, restriction and PCR-RFLP, genetic polymorphism.

## ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ШТАММА *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* ЕК-5-93 – БИОДЕСТРУКТОРА МЕТИЛФОСФОНАТОВ

К.К. СТЯЖКИН<sup>1</sup>, С.Л. КУЗНЕЦОВ<sup>1</sup>, И.В. ДАРМОВ<sup>2</sup>, И.В. ЖИВОВ<sup>3</sup>, А.А. ЛЕЩЕНКО<sup>2\*</sup>,  
А.Г. ЛАЗЫКИН<sup>2</sup>, И.П. ПОГОРЕЛЬСКИЙ<sup>2</sup>, А.В. ВАГАНОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Управление биологической защиты Управления начальника войск радиационной, химической и биологической защиты Вооруженных Сил Российской Федерации, Москва;

<sup>2</sup> Федеральное государственное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации»,

<sup>3</sup> Кировский научно-исследовательский государственный институт гематологии и переливания крови, Киров

Представлены результаты исследований по оптимизации условий глубинного культивирования штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93, являющегося биодеструктором метилфосфонатов. В ходе экспериментов определены оптимальные посевная доза и диапазон рН среды, а также подобраны источники углерода, обеспечивающие наибольший уровень накопления биомассы микробов *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93. Показано, что оптимизация процесса культивирования штамма-биодеструктора *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93 обеспечивает рост и накопление живых микробных клеток в лабораторном ферментере «MD-150» с использованием синтетической питательной среды, содержащей глифосат на уровне  $(3,2 \pm 0,1)$  млрд. м. кл. см<sup>-3</sup>, что является определяющим фактором в технологии биопрепарата, предназначенного для очистки загрязненных территорий от продуктов детоксикации токсичных фосфорорганических соединений.

**Ключевые слова:** штамм-биодеструктор, глифосат, глубинное культивирование, *Pseudomonas*.

### Введение

В настоящее время близится к завершению выполнение федеральной целевой программы в рамках международной конвенции о запрещении разработки, накопления и применения химического оружия (ХО) и его уничтожении. Одной из важных задач данной программы является проведение работ по санации загрязненных территории после вывода из эксплуатации объектов уничтожения ХО [1]. Для обеспечения этих работ требуются надежные и вместе с тем дешевые средства и методы. На фоне используемых для данных целей физических, химических и механических приемов

и методов [2] биотехнологические выгодно отличаются своей эффективностью и экономичностью. Применение в процессе очистки загрязненных территорий природных или сконструированных микроорганизмов, а также растений (биоремедиация) является одним из перспективнейших направлений в данной области [3, 4].

Токсичные фосфорорганические соединения (ФОС), попадая в почву, постепенно гидролизуются почвенной биотой с образованием целого спектра веществ, основным из которых является метилфосфоновая кислота и ее производные. Сохраняясь в почве в течение десятилетий, метилфосфонаты угнетают естественную микрофлору и пагубно влияют на развитие растений [5]. Последние разработки российских и зарубежных ученых показали, что в экосистемах существуют микроорганизмы, способные полностью ассимилировать данное соединение до конечных экологически чистых продуктов распада [6, 7]. Непременным условием использования таких микроорганизмов в составе биопрепарата для ремедиации почв, загрязненных продуктами детоксикации ФОС, *in situ* (на месте) является наличие технологии, обеспечивающей его производство в больших количествах.

© 2010 г. Стяжкин К.К., Кузнецов С.Л., Дармов И.В., Живов И.В., Лещенко А.А., Лазыкин А.Г., Погорельский И.П., Ваганов А.В.

\* **Автор для переписки:**

Лещенко Андрей Анатольевич, д.т.н., профессор, ведущий научный сотрудник 48 Центрального НИИ МО РФ ФГУ «48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации», 610000 Киров, Октябрьский проспект, 119  
Тел./факс: (8332) 38-15-27

Глубинное культивирование микроорганизмов — основной этап технологии получения биопрепарата, от условий и режимов проведения которого во многом зависят его количественные и качественные характеристики. Оптимизация процесса культивирования должна быть направлена на достижение максимального выхода биомассы, характеризующейся деструктивной активностью в отношении метилфосфонатов.

Целью данной работы являлась оптимизация условий и параметров глубинного культивирования штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93, обеспечивающих максимальное накопление метаболически активных в отношении метилфосфонатов живых микробных клеток биодеструктора.

### Материалы и методы

**Объект исследования.** В работе использовали штамм *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93, обладающий деструктивными свойствами в отношении продуктов детоксикации ФОС. Он выделен из мест естественной адаптации к данным соединениям и депонирован в коллекции технофильных микроорганизмов ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России».

**Приготовление посевных культур.** Для получения чистой рабочей культуры отдельные колонии штамма-биодеструктора (20–30 шт.), выросшие на чашках Петри с синтетической питательной средой (ПС) следующего состава (пропись № 1), г·дм<sup>-3</sup>: агар микробиологический — 30,0 (Оболensk, Россия); Трис (гидрокси метил) аминметан — 12,1 (Sigma-Aldrich, США); натрий хлористый — 5,4 (ч.д.а., Россия); калий хлористый — 3,0 (ч.д.а., Россия); аммоний хлористый — 1,1 (ч.д.а., Россия); магний хлористый 6-водный — 0,2 (ч.д.а., Россия); натрий серноокислый двузамещенный — 0,01 (ч.д.а., Россия); кальций хлористый — 0,01 (х.ч., Россия); глюкоза — 2,0 (ч.д.а., Россия); железо серноокисное 7-водное — 0,00027 (ч.д.а., Россия), в присутствии наиболее доступного из метилфосфонатов — гербицида глифосата (ГФ — Monsanto, США), дозы введения которого приведены в разделе «Результаты и обсуждение», пересевали в пробирки с жидкой синтетической ПС (пропись № 2), отличающейся от среды по прописи № 1 отсутствием агара микробиологического. Далее культуру последовательно пересевали сначала в пробирки с плотной синтетической ПС, а затем в матрицы со средой аналогичного состава. По окончании роста культуру, выращенную в матрицах, смывали физиологическим раствором (по 10,0 см<sup>3</sup> в матрицу), определяли:

общую концентрацию микробов по стандарту мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича на 10 ед. (ОСО 42-28-29-86 П) [8]; концентрацию живых клеток (КОЕ) методом высева серийных десятикратных разведений на чашки Петри с плотной питательной средой с последующим подсчетом выросших колоний; морфологию микробов в мазках, окрашенных по Граму. Отсутствие посторонней микрофлоры устанавливали способом визуального контроля окрашенных по Граму мазков и выросших на чашках Петри с плотной ПС отдельных колоний.

**Условия проведения ферментации.** Определение оптимальной посевной дозы и диапазона рН проводили в колбах вместимостью 500 см<sup>3</sup> с 50 см<sup>3</sup> среды (пропись № 2) на термостатируемом шуттель-аппарате «Innova 42» (New Brunswick, США), при температуре 28±1 °С, частоте качания платформы 180±10·мин.<sup>-1</sup>, время выращивания — 48 ч.

Изучение технологических параметров процесса культивирования осуществляли в лабораторном ферментере «MD-150» (Marubishi, Япония), оснащенном механическим перемешивающим устройством, фильтрами тонкой очистки воздуха, системами термостатирования, рН-статирования и датчиками окислительно-восстановительного потенциала, скорости перемешивания и расхода воздуха на аэрацию.

Выращивание штамма-биодеструктора проводили при температуре 28±1 °С в течение 66 ч при уровне аэрации и частоте вращения вала перемешивающего устройства, обеспечивающего массообмен 0,9–1,1 мМ·дм<sup>-3</sup>·мин.<sup>-1</sup> в жидкой синтетической ПС (пропись № 2). Значение рН в среде поддерживали автоматически введением 12,5% раствором аммиака (х.ч., Россия). В процессе культивирования с 6-часовой периодичностью отбирали пробы, в которых оценивали показатель ОК, значения КОЕ, отсутствие посторонней микрофлоры и изучали морфологию микробов.

**Определение степени деструкции ГФ в культуральной жидкости.** В пробу культуральной жидкости вносили последовательно 5% раствор калия гидрокарбоната (ч.д.а., Россия) и дериватизирующий реагент, содержащий бромфенацил бромид, дициклогексил-18-краун-6 эфир в ацетонитриле (все Sigma-Aldrich, США). Полученную смесь инкубировали при температуре 50 °С и постоянном встряхивании в течение 17 ч.

Анализ подготовленного образца проводили с использованием системы для высокоэффективной жидкостной хроматографии (Gilson, Франция) в обращенно-фазной колонке «Luna C18(2) 250x4.5» (Phenomenex, США) с детекцией при длине волны 254 нм [9]. В

качестве элюирующей использовали систему на основе градиента ацетонитрила  $1,5\% \cdot \text{мин.}^{-1}$  и скорости потока элюента, равной  $1 \text{ см}^3 \cdot \text{мин.}^{-1}$ . Время удерживания бромфенацил-производного ГФ составило 15,5–15,9 мин.

Степень деструкции ГФ определяли по разнице площадей хроматографических пиков, выраженной в процентах.

Результаты экспериментальных исследований представлены в виде средних арифметических значений с определением доверительных интервалов при уровне вероятности, равном 95%. Обработку данных проводили с использованием пакета программ вариационной статистики MS Excel 7.0. Число повторностей экспериментов в каждом опыте было не менее 5.

### Результаты и обсуждение

Первоначально определяли оптимальную посевную дозу, обеспечивающую максимальный прирост биомассы. Для этого микробную культуру *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93 вносили в жидкую синтетическую ПС в концентрации от  $0,5 \cdot 10^6$  до  $0,5 \cdot 10^9$  м. кл.  $\cdot \text{см}^{-3}$  при разных содержаниях ГФ.

Анализ результатов инкубирования, представленных в таблице 1 и на рисунке 1, показывает, что при посевных дозах 0,5 и 5,0 млн. м. кл.  $\cdot \text{см}^{-3}$  прироста биомассы не происходило.

Таблица 1

#### Инкубирование штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93 при различных посевных дозах и концентрациях ГФ в среде

Концентрация ГФ, мг $\cdot \text{дм}^{-3}$	Накопление биомассы, млн. м. кл. $\cdot \text{см}^{-3}$ при посевной дозе..., млн. м. кл. $\cdot \text{см}^{-3}$			
	0,5	5	50	500
10	1,65±0,01	4,00±0,13	150,00±7,86	870,00±80,30
15	0,20±0,01	3,00±0,14	150,00±11,02	1450,00±91,42
20	0,07±0,01	2,84±0,15	80,00±9,78	1200,00±78,62
25	0,07±0,01	0,71±0,09	50,00±5,06	800,00±45,03

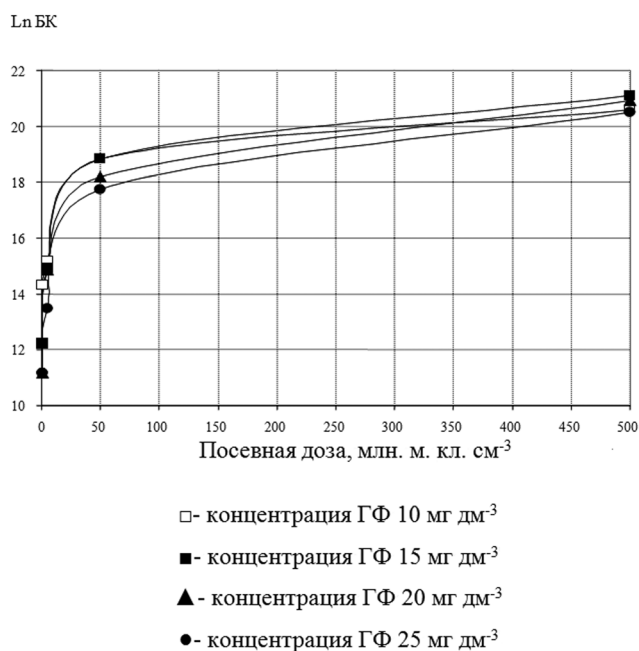


Рис. 1. Уровень накопления микробов штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93 при различных посевных дозах

Количество живых микробных клеток к окончанию культивирования было ниже посевной дозы практически во всех случаях. По нашему мнению, ингибирование роста культуры происходит в результате высокой удельной нагрузки ГФ на микробные клетки в момент внесения посевного материала в ПС. Расчетные показатели удельной нагрузки (содержание ГФ/млрд. м. кл.) представлены в таблице 2.

Таблица 2

#### Расчетные показатели удельной нагрузки источника фосфора к количеству биомассы

Концентрация ГФ, мг $\cdot \text{дм}^{-3}$	Удельная нагрузка источника фосфора к количеству биомассы — грамм ГФ/млрд. м. кл.... при посевной дозе..., млн. м. кл. $\cdot \text{см}^{-3}$			
	0,5	5	50	500
10	20,00	2,00	0,20	0,02
15	30,00	3,00	0,30	0,03
20	40,00	4,00	0,40	0,04
25	50,00	5,00	0,50	0,05

Величина накопления биомассы при разных посевных дозах зависела от концентрации ГФ в среде. Данные, представленные в таблице 2, показывают, что при удельной нагрузке от 0,2 до 50 г ГФ/млрд. м. кл. происходит ингибирование роста микробов, что выражалось в увеличении продолжительности лаг-фазы и, как следствие, снижении удельной максимальной скорости роста – скорости потребления субстрата (ГФ).

В то же время удельная нагрузка 0,03–0,04 г ГФ/млрд. м. кл. для уровня посевной дозы 500 млн. м. кл.·см<sup>-3</sup> и концентрации ГФ в среде в пределах 15–18 мг·дм<sup>-3</sup> обеспечивали максимум накопления живых микробных клеток (см. табл. 2).

Полученные экспериментальные данные, а именно: соотношение посевной дозы с содержанием ГФ в среде принимали к сведению при глубинном выращивании культуры в лабораторном ферментере.

Величину оптимального диапазона значений рН для роста штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93 установили с учетом известного влияния концентрации водородных ионов в среде [11], что, в свою очередь, существенно зависит от используемого источника углерода. В этой связи была проведена серия экспериментов, в которых определяли зависимость выхода биомассы штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93 от источника углерода (глюкоза, глутамат натрия, глюкоза + глутамат натрия, глицерин и глюкоза + глицерин) и величины рН в среде культивирования. В опытах посевная доза и содержание

ГФ являлись фиксированными значениями и составляли 0,5·10<sup>9</sup> м. кл.·см<sup>-3</sup> при концентрациях ГФ 18 мг·дм<sup>-3</sup>, соответственно. Концентрации углеродсодержащих субстратов соответствовали уровню 4,0 г·дм<sup>-3</sup> (при использовании двух источников углерода концентрация каждого из них составляла 2,0 г·дм<sup>-3</sup>). Результаты эксперимента представлены в таблице 3 и на рисунке 2.

млрд. м. кл.·см<sup>-3</sup>

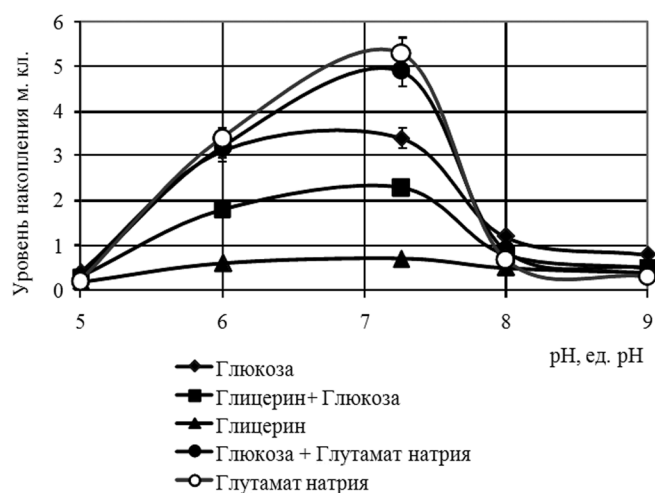


Рис. 2. Зависимость накопления микробов штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93 от источников углерода и величины рН

Полученные данные показывают, что в средах с глюкозой, глутаматом натрия и глюкозой + глутаматом натрия наблюдали максимальное накопление биомассы. Культура хорошо росла в диапазоне рН 6,5–7,5 ед. рН, тогда как в средах с глицерином и глюкозой + глицерином прирост биомассы был незначителен, в том числе в диапазоне рН 6,5–7,5 ед. рН. Это, по-видимому, связано с увеличением продолжительности лаг-фазы. В данном случае накопление биомассы, вне зависимости от углеродного источника, резко снижалось как в щелочной, так и в кислой области.

Результаты экспериментов показали, что оптимальным значением рН для роста культуры штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93 является величина в диапазоне от 6,5 до 7,5 ед. рН. Оптимальным углеродным источником является глюкоза и глутамат или их комбинация.

Дальнейшие исследования были направлены на изучение технологических параметров процесса глубинного культивирования штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93 в лабораторных ферментерах с учетом оптимальной посевной дозы и диапазона рН, определенных ранее. Результаты культивирования представлены в таблице 4.

Таблица 3

**Культивирование штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93 в средах с различными источниками углерода и значениями рН**

Источник углерода	Накопление биомассы, млрд. м. кл.·см <sup>-3</sup> при значении рН..., ед. рН.				
	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0
Глюкоза	0,4±0,2	3,1±0,3	3,4±0,3	1,2±0,3	0,8±0,4
Глицерин+ Глюкоза	0,3±0,2	1,8±0,4	2,3±0,2	0,8±0,2	0,5±0,3
Глицерин	0,2±0,1	0,6±0,2	0,7±0,3	0,5±0,2	0,4±0,2
Глюкоза + Глутамат натрия	0,3±0,2	3,2±0,4	4,9±0,4	0,9±0,3	0,5±0,2
Глутамат натрия	0,2±0,1	3,4±0,5	5,3±0,6	0,7±0,2	0,3±0,2

**Культивирование штамма *Pseudomonas fluorescens* ЕК-5-93  
в лабораторном ферментере «MD-150»**

Продолжительность выращивания	Показатели роста штамма <i>Pseudomonas fluorescens</i> ЕК-5-93					
	Значение рН, ед. рН	Количество введенного 12,5% аммиака, см <sup>3</sup>	Концентрация глюкозы, г·дм <sup>-3</sup>	Уровень накопления микробов по ОК, млрд. м. кл.·см <sup>-3</sup>	Уровень накопления микробов по БК, млрд. м. кл.·см <sup>-3</sup>	Степень деструкции ГФ, процент
0	6,9±0,2	0	4,0±0,3	менее 1	0,52±0,03	0
6	7,1±0,1	0	3,5±0,3	менее 1	0,47±0,05	0
12	7,1±0,2	2,5	1,7±0,4	1,0±0,3	0,6±0,05	5,0±2,0
18	7,1±0,2	4,3	0	1,5±0,1	0,86±0,06	8,0±3,0
24	7,0±0,1	0	0	2,0±0,1	1,15±0,09	20,0±3,0
30	6,8±0,2	0	0	2,3±0,2	1,35±0,13	42,0±4,0
36	6,9±0,2	0	0	3,2±0,4	1,72±0,17	68,0±6,0
42	7,0±0,2	0	0	3,6±0,2	2,32±0,20	74,0±4,0
48	7,0±0,1	0	0	3,8±0,2	2,81±0,23	86,0±4,0
54	7,1±0,1	0	0	4,1±0,3	2,86±0,27	90,0±5,0
60	7,2±0,2	0	0	4,2±0,4	3,05±0,31	95,0±5,0
66	7,4±0,1	0	0	4,4±0,4	3,03±0,35	97,0±3,0

*Примечание:* во всех исследуемых пробах посторонняя микрофлора не обнаружена и установлена типичная морфология клеток



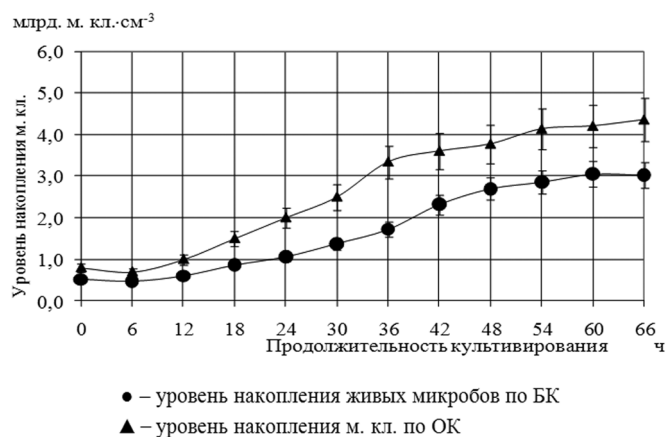


Рис. 3. Динамика накопления микробных клеток штамма *Pseudomonas fluorescens* EK-5-93 в лабораторном ферментере «MD-150»

Анализ данных (табл. 4 и рис. 3) показывает, что уровень накопления микробных клеток не превышал 4 млрд. м. кл.·см<sup>-3</sup> (по ОК). В процессе культивирования динамично изменялись все показатели роста: глюкоза утилизовалась полностью, как правило, к 18 ч роста. При утилизации глюкозы происходило постепенное закисление ПС, значение рН которой корректировали введением раствора аммиака.

Активное потребление глюкозы и прирост свободной биомассы в культуральной среде сопровождалось эффективным разложением ГФ под действием ферментной системы штамма-биодеструктора (к 66 ч роста разложение ГФ приблизилось к величине 100%).

Таким образом, в процессе глубинного культивирования в лабораторном ферментере через 66 ч роста было получено более 3 млрд. м. кл.·см<sup>-3</sup> живых типичных по морфологическим признакам микробных клеток штамма *Pseudomonas fluorescens* EK-5-93, сохраняющих высокую деструктивную активность в отношении ГФ.

### Заключение

В результате проведенных исследований показано, что оптимизация процесса культивирования штамма-биодеструктора *Pseudomonas fluorescens* EK-5-93 обеспечивает рост и накопление живых микробных клеток в лабораторном ферментере «MD-150» с использованием синтетической ПС, содержащей ГФ, на уровне  $3,2 \pm 0,1$  млрд. м. кл.·см<sup>-3</sup>.

Лаг-фаза составляла в среднем 12 ч. Прирост биомассы характеризовался низкой удельной скоростью роста, не превышающей  $0,05 \text{ ч}^{-1}$ . При этом оптимальная

концентрация посевной дозы штамма-биодеструктора составляла  $0,5$  млрд. м. кл.·см<sup>-3</sup>.

Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что при удельной нагрузке от 0,2 до 50 г ГФ/млрд. м. кл. происходит ингибирование роста микробов. Оптимальная величина активной реакции среды при культивировании микробов штамма *Pseudomonas fluorescens* EK-5-93 находится в диапазоне от 6,5 до 7,5 ед. рН. В качестве источника углерода предпочтение отдается использованию глюкозы и глутамата натрия.

Работа была выполнена при поддержке Государственного контракта № ЦР/07/2085/УЗО/К.

### Литература

1. Оптимизация технологических параметров процесса переработки реакционных масс, образующихся при уничтожении фосфорорганических отравляющих веществ, методом биодegradации: отчет о НИР (итоговый) / Институт биохимической физики РАН им. Н.М. Эмануэля РАН; рук. — С.Д. Варфоломеев. — М., 2008. — 288 с. — № ГР У89691.
2. Скоробогатова В.И., Щербаков А.А., Мандыч В.Г. Санация загрязненных территорий в районах хранения и уничтожения химического оружия // Рос. хим. журн. (Журн. Рос. хим. общ-ва им. Д.И. Менделеева). — 2007. — Т. LI. — № 2. — С. 71–74.
3. Харечко А.Т., Мягких В.И., Завьялова Н.В. и др. Применение биотехнологических методов для обеспечения экологической безопасности объектов по уничтожению химического оружия / ТЕХНОГЕН-97: Тез. докл. конф., Екатеринбург, 11–14 февр., 1997. — Екатеринбург, 1997. — С. 63–64.
4. Завьялова Н.В., Кротович И.Н., Мягких В.И. и др. Биотехнологические методы уничтожения химического оружия и устранения загрязнения окружающей среды // Федеральные и региональные проблемы уничтожения химического оружия. — 2000. — № 2. — С. 41–47.
5. Огородникова С.Ю., Головки Т.К., Ашихмина Т.Я. Реакции растений на действие метилфосфоновой кислоты // Теоретическая и прикладная экология. — 2007. — № 1. — С. 78–83.
6. Харечко А.Т., Мягких В.И., Завьялова Н.В. и др. Оценка влияния микроорганизмов на динамику разложения зомана в почве // Российский хим. журнал. — 1995. — Т. 39. — № 4. — С. 104–107.
7. Бакулин Ю.С., Завьялова Н.В., Лысов А.А. и др. Экспериментальная проверка биодеструкции реакционных масс химической детоксикации ФОВ фосфонат-разлагающими бактериями // Федеральные и региональные проблемы

- уничтожения химического оружия. – 2000. – Вып. 2. – С. 47–52.
8. Баснакьян И.А. Культивирование микроорганизмов с заданными свойствами. – М.: Медицина, 1992.
9. Bossle P.C., Martin J.J., Sarwer E.W. et al. High-performance liquid chromatography analysis of alkyl methylphosphonic acidis by derivatization // J. Chromat. – 1983. – Vol. 267. – P. 209–212.
10. Паников Н.С., Дорофеев А.Г., Бондаренко Т.Ф., Звягинцев Д.Г. Влияние концентрации субстрата на рост и

дыхание микроорганизмов, реализующих разные экологические стратегии // Микробиология. – Т.56. – Вып. 6. – С. 963–972.

*Список сокращений:*

ФОС – фосфорорганические соединения,  
ГФ – глифосат,  
ПС – питательная среда.

## OPTIMIZATION OF CONDITIONS FOR SUBMERGED CULTIVATION STRAIN OF PSEUDOMONAS FLUORESCENS EK-5-93 – BIODESTRUCTORS METHYLPHOSPHONATES

K.K. STYAZHKIN<sup>1</sup>, S.L. KUZNETSOV<sup>1</sup>, I.V. DARMOV<sup>2</sup>, I.V. ZHIVOV<sup>3</sup>, A.A. LESCHENKO<sup>2</sup>, A.G. LAZYKIN<sup>2</sup>, I.P. POGORELSKIY<sup>2</sup>, A.V. VAGANOV<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Office of Biological Protection, Office of the Chief of the troops of radiation, chemical and biological protection of the Armed Forces of the Russian Federation, Moscow;*

<sup>2</sup> *Federal State Institution «48 Central Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation»*

<sup>3</sup> *Kirov State Research Institute of Hematology and Blood Transfusion, Kirov*

The results of studies to optimize the conditions of submerged culture of the strain *Pseudomonas fluorescens* EK-5-93, which biodestructors methylphosphonates. During the experiments, the optimal dose of the crop and the range of pH environment, as well as selected carbon sources to ensure the highest level of accumulation of biomass of microbes *Pseudomonas fluorescens* EK-5-93. It is shown that the optimization process of cultivation of the strain-biodestructors *Pseudomonas fluorescens* EK-5-93 provides the growth and accumulation of living microbial cells in a laboratory fermenter «MD-150» using a synthetic nutrient medium containing glyphosate at a level of  $(3,2 \pm 0,1)$  billion m cells·cm<sup>-3</sup>, which is the determining factor in the technology of biological product designed to clean contaminated areas of the detoxification products of toxic organophosphorus compounds.

*Keywords:* strain-biodestructors, methylphosphonates, glyphosate, deep cultivation, *Pseudomonas*.

## О СТРАТЕГИИ РАЗВИТИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ОТРАСЛИ ПРОМЫШЛЕННОСТИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ДО 2020 ГОДА.

Р.Г. ВАСИЛОВ<sup>1\*</sup>, В.И. ТРУБНИКОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Общество биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова,*

<sup>2</sup> *Союз предприятий биотехнологической отрасли, Москва*

Представлен окончательный текст Стратегии развития биотехнологической отрасли промышленности Российской Федерации до 2020 года (Стратегия «БИО-2020»). Данный материал всесторонне обсужден и утвержден Союзом предприятий биотехнологической отрасли и Обществом биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова.

*Ключевые слова:* биотехнология, стратегия развития до 2020 года, Российская Федерация.

В сообщении представлена Стратегия развития биотехнологической отрасли промышленности Российской Федерации до 2020 года (Стратегия «БИО-2020»). Стратегия «БИО-2020» является документом экспертно-аналитического и рекомендательного характера, подготовленный в порядке общественной инициативы Обществом биотехнологов России имени Ю.А. Овчинникова (ОБР) и Союзом предприятий биотехнологической отрасли.

Настоящий документ разрабатывался на протяжении двух лет. В конце 2008 года первый его вариант был представлен на обсуждение в виде «Концепции стратегии развития биотехнологической отрасли промышленности на 2008–2020 гг.».

Эта концепция была утверждена на Всероссийском совещании работников предприятий биотехнологической отрасли 2 декабря 2008 года в Москве. Она была напечатана в Томе 4, № 4 журнала «Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова» за 2008 год и выставлена на сайте Общества биотехнологов России имени Ю.А. Овчинникова [www.biorosinfo.ru](http://www.biorosinfo.ru).

Через год в декабре 2009 года в развитие указанной концепции были подготовлены «Рабочие материалы к Стратегии развития биотехнологической отрасли про-

мышленности до 2020 года». В них были помещены дорожные карты развития красной, зеленой и белой биотехнологии, проведена оценка рисков, осуществлен форсайт-анализ и др. Эти материалы были одобрены совещанием Союза предприятий биотехнологической отрасли и помещены на сайте ОБР.

В 2010 году работа над совершенствованием Стратегии была продолжена. Были собраны, проанализированы и включены в переработанном виде замечания и предложения, направленные на улучшение формы и содержания документа.

В отредактированном виде был сформирован окончательный текст «Основные направления Стратегии развития биотехнологической отрасли промышленности до 2020 г. (Стратегия «БИО-2020»)» на 13 страницах с 5 приложениями.

С целью его утверждения в Москве 9 декабря 2010 года было проведено собрание Союза предприятий биотехнологической отрасли. Итоговый документ был представлен президентом Общества биотехнологов России имени Ю.А. Овчинникова Р.Г. Василовым и председателем Наблюдательного совета Союза предприятий биотехнологической отрасли В.И. Трубниковым. В результате подробного совместного анализа был внесен ряд ценных исправлений и дополнений. В частности, было предложено назвать документ более конкретно «Стратегия» и добавить, что это относится к Российской Федерации. После обсуждения Стратегия «БИО-2020» была единогласно утверждена участниками совещания. 23 декабря 2010 г. Стратегия была утверждена Центральным Правлением ОБР.

Ниже помещается полный текст Стратегии (без специальных приложений к ней).

© 2010 г. Василов Р.Г., Трубников В.И.

\* **Автор для переписки:**

Василов Раиф Гаянович

доктор биологических наук, профессор,

президент Общества биотехнологов России

им. Ю.А. Овчинникова

Тел.: (495) 648-09-13

E-mail: raifvasilov@mail.ru

## ПРИЛОЖЕНИЕ

### Стратегия развития биотехнологической отрасли промышленности Российской Федерации до 2020 года (Стратегия «БИО-2020»<sup>©</sup>)

Утверждена общим собранием Союза предприятий биотехнологической отрасли 9 декабря 2010 года и Центральным Правлением Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова 23 декабря 2010 года

#### 1. Введение

Биотехнология является одним из научно-практических приоритетов XXI века. В ряде ведущих государств мира — США, Евросоюз, Китай, Япония, Индия, Бразилия - это официально определено в качестве первоочередной государственной задачи. В развитие данной стратегии в указанных странах созданы специальные программы, приняты соответствующие законы, установлены экономические преференции и т.д. Это привело к тому, что за последние 20 лет сектор биотехнологии вместе с фармацевтикой вошел в тройку лидеров по капитализации (уступая только нефтегазовому и банковскому секторам). В 2010 году глобальный рынок биотехнологии планируется в размере около 2 трлн. евро. Согласно прогнозам, к 2020 году ожидается примерное удвоение этой цифры. К примеру, Китай намечает выход к указанному времени на уровень биотехнологического производства порядка 500 млрд. долларов.

Доля Российской Федерации в мировом объеме биотехнологической продукции ныне ничтожно мала (в 2010 году примерно 0,2%). Это явно не соответствует интеллектуальному, научно-технологическому и ресурсному потенциалу страны и вступает в противоречие с поставленными руководством государства стратегическими ориентирами, в частности с Концепцией долгосрочного социально-экономического развития Российской Федерации до 2020 года (утверждена распоряжением Правительства РФ 17 ноября 2008 г. N 1662-р). Известно, что в данной Концепции биотехнология наряду с информатизацией и нанотехнологиями включена в приоритеты высшего уровня.

Исходя из вышеупомянутого, Общество биотехнологов России имени Ю.А. Овчинникова в 2005 году выступило с инициативой реализации Национальной программы «Развитие биотехнологии в Российской Федерации на 2006—2015 гг.»<sup>©</sup> (программа утверждена III съездом Общества 27.10.2005 г.) (Приложение

1). В Программе определены цели и задачи, комплекс мероприятий, целевые показатели, социальная эффективность, механизмы осуществления по принципу государственно-частного партнерства и др. Способы финансирования проектов Программы предусмотрены в виде целевого привлечения средств из бюджетов разных уровней и внебюджетных источников. Государственная составляющая Программы мыслится как специальная ФЦП для федерального уровня и как региональные программы субъектов РФ в виде ОЦП и других программно-целевых форм.

С принятием государственной Концепции долгосрочного социально-экономического развития Российской Федерации до 2020 года создатели и исполнители Программы скорректировали ее некоторые целевые установки в соответствии со стратегическими задачами Концепции как в отношении сроков реализации, так и намечаемых индикативных показателей. В результате в 2008 году Обществом биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова и Союзом предприятий биотехнологической отрасли был разработан документ «Концепция стратегии развития биотехнологической отрасли промышленности на 2008—2020 гг.». Этот документ был подвергнут широкому обсуждению специалистов и утвержден на I Всероссийском совещании работников биотехнологической отрасли в Москве в декабре 2008 г.

В дальнейшем положения принятой Стратегии совершенствовались, конкретизировались, особенно аспекты ее практической реализации. В частности, составлены «дорожные карты» по базовым направлениям биоиндустрии (Приложение 2). Материалы Стратегии были выставлены на сайте Общества биотехнологов России [www.biorosinfo.ru](http://www.biorosinfo.ru). Кроме того, Стратегия была представлена на II Международном конгрессе «ЕвразияБио» в Москве в апреле 2010 г. и получила высокую оценку отечественных и зарубежных экспертов.

В настоящее время после всестороннего обсуждения и коррекции содержания Стратегия оформлена в виде окончательного документа.

#### 2. Цель и задачи стратегии

##### 2.1. Цель и задачи Стратегии.

Цель Стратегии — внедрение в промышленную биотехнологию России современных подходов для производства импортозамещающей отечественной биотехнологической продукции.

Основные задачи Стратегии:

- формирование и реализация приоритетных целевых проектов в сфере биоиндустрии;

- создание региональных программ и биокластеров;
- разработка оптимальных моделей инновационной и инвестиционной деятельности в области промышленной биотехнологии;
- создание действенной правовой, экономической, информационной и организационной базы для развития отечественной биоиндустрии;
- формирование системы подготовки кадров в области промышленной биотехнологии;
- совершенствование международного сотрудничества, в том числе в рамках СНГ и евразийского пространства.

## 2.2. Место и значение Стратегии развития биотехнологической отрасли в общей стратегии государства

Разработанная Стратегия является откликом профессионального сообщества биотехнологов на провозглашение государством стратегии ускоренного социально-экономического развития к рубежу 2020 года, поддержанной партией «Единая Россия» в виде ее «Стратегии-2020», призывающей все общественные слои к максимальной консолидации и активной позиции в области инновационной деятельности.

Выбор формы Стратегии обусловлен тем, что ускоренное решение проблем развития отечественной биотехнологии представляет собой сложную широкомасштабную цель, требующую для ее достижения длительного периода активной ориентированной деятельности в режиме междисциплинарного и межведомственного охвата иерархии древа целей, задач и управленческих действий.

Данная Стратегия представляет собой общественную инициативу, основанную на разносторонней проработке содержательной сущности и независимой экспертизе. Как показал опыт, своевременная качественная подготовка подобного рода документов является свидетельством зрелости гражданского общества и выполняет важную миссию в цепи взаимодействия государства — общества — бизнеса. Выше отмечалась концептуальная роль Национальной программы «Развитие биотехнологии в Российской Федерации на 2006—2015 гг.»<sup>©</sup>. Более того, не менее существенны некоторые итоги ее практической реализации, особенно на региональном уровне. Так, например, разработаны и утверждены две региональные программы развития биотехнологии — в Республике Татарстан и Чувашской Республике (Приложения 3 и 4). Поднято на высокий научно-методический и организационный уровень международное сотрудничество — взаимодействие по

европейским рамочным платформам, установление договорных отношений с ведущими биотехнологическими ассоциациями Европы и Азии и др. Заметный прогресс достигнут в сфере информационной поддержки развития биотехнологии в стране: создан эффективно функционирующий сайт [www.biorosinfo.ru](http://www.biorosinfo.ru), шестой год выпускается профессиональный журнал «Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова», выпускается серия тематических материалов (руководств, сборников, методических рекомендаций).

Благодаря Программе Общество биотехнологов России и Союз биотехнологов получили возможность обсуждать проблемы развития отечественной биотехнологии на законодательном уровне в Государственной Думе ФС РФ: круглые столы (2005, 2007), парламентские слушания (2009) — итоговые материалы на сайте [www.biorosinfo.ru](http://www.biorosinfo.ru).

Появление нового, тщательно подготовленного концептуального документа — Стратегии развития биотехнологической отрасли промышленности Российской Федерации до 2020 года (Стратегия «БИО-2020») — может сыграть определенную роль в работе государственных структур, активизированной в последнее время и направленной на создание технологических платформ по разным направлениям биоиндустрии.

## 3. Этапы реализации стратегии

Предусматривается два этапа реализации Стратегии:

- первый — 2010—2015 гг.,
- второй — 2016—2020 гг.

В ходе реализации Стратегии планируется поэтапно выход на определенные целевые показатели (см. п. 7).

## 4. Основные направления (субстратегии) и система мероприятий

В настоящем разделе Стратегии выделяются основные направления (субстратегии), в структуре которых приводятся перечни планируемых к производству продуктов (без уточнения конкретных сроков и исполнителей — это, как правило, является прерогативой сформированных программ или целевых проектов).

В традициях зарубежных подходов к классификации биотехнологии принято говорить о трех главных блоках: «красная» биотехнология, «зеленая» биотехнология, «белая» биотехнология. Если говорить о красной биотехнологии, то подразумевается ее направление, связанное в основном с биофармацевтикой. Зеленая биотехнология включает в свою сферу сельское хозяйство. Белая био-

технология имеет дело с химической промышленностью и биоэнергетикой. Следует отметить, что в отдельных случаях применяют дополнительные «цветовые» термины в виде «серая» биотехнология (имеет отношение к экологии), «синяя» биотехнология (относится к аквакультурам и мариккультурам) и т.д.

В предлагаемой Стратегии такая терминология может дать неоднозначное представление о точной классификации той или иной отрасли биотехнологической промышленности. Поэтому разработчики Стратегии использовали традиционную общепринятую в зарубежной и отечественной литературе терминологию (в том числе в соответствии со стандартами: код ГРНТИ и другие классификаторы).

В Стратегии выделены 12 главных направлений, в структуре которых перечислены намечаемые к выпуску биотехнологические продукты.

*4.1. Медицинская биотехнология. Биофармацевтическая промышленность. Биотехнологическое приборостроение.*

- Генно-инженерные препараты.
- Иммунобиологические препараты.
- Диагностикумы.
- Антибиотики.
- БАВ. Препараты из натурального сырья. Лечебно-косметические препараты.
- Биомедицинские технологии (клеточные технологии — стволовые клетки, генотерапия, персонифицированная медицина, направленный транспорт лекарств и т.д.).
- Приборостроение: создание биочипов, биосенсоров, биокомпьютеров.

*4.2. Биоиндустрия в сельском хозяйстве.*

- Корма.
- Антибиотики.
- Трансгенные растения.
- Трансгенные животные.
- Средства для биологической защиты растений.
- Ветеринарная биотехнология.
- Биоудобрения.
- Вермикультура.
- Иные виды продукции сельскохозяйственной биотехнологии.

*4.3. Пищевая биоиндустрия.*

- Производство дрожжей.
- Глюкозо-фруктозные сиропы.
- Пищевые добавки.
- Другие виды продукции пищевой биотехнологии.

*4.4. Химическая биотехнология.*

- Органические кислоты.

- Аминокислоты.
- Биополимеры (включая биodeградируемые).
- Биопластики.
- Гидролизная промышленность (спирт, кормовой белок).

- Иные химические продукты.

*4.5. Производство ферментов и ферментных препаратов.*

- Ферменты для пищевой промышленности.
- Ферменты для медицинской промышленности.
- Ферменты для легкой промышленности.
- Ферменты для производства моющих средств.
- Ферменты для химической индустрии.

*4.6. Биоэнергетика.*

- Биоэтанол, биобутанол, биобензин.
- Биодизель.
- Биогаз. Биотопливные элементы. Биоводород.
- Другие виды биотоплива (пеллеты, бионефть, биоуголь и др.).

*4.7. Биогеотехнология.*

- Бיוвыщелачивание золота, меди, никеля и других металлов.
- Технологии повышения нефтеотдачи.
- Технологии снижения взрывоопасности метана в шахтах.

*4.8. Природоохранная биотехнология.*

- Биоремедиация (биотехнологическая очистка воды, воздуха, ремедиация почв и утилизация отходов).
- Биоконверсия растительного сырья.
- Замкнутые производственные циклы.
- Биоэкополис.

*4.9. Лесная биотехнология.*

- Технология микрклонального размножения.
- Деревья с повышенной скоростью роста (осина, береза, тополь, ель, сосна, кедр и др.).
- Глубокая переработка древесины по безотходной технологии.

*4.10. Морская биотехнология. Аквакультуры.*

- Биотехнология гидробионтов.
- Базовые морепродукты.
- Антарктический криль.
- Мариккультуры.
- Аквакультуры.

*4.11. Биоресурсы. Биоразнообразие. Биобезопасность.*

- Биоресурсные центры.
- Национальные коллекции: сельскохозяйственных растений (ВИР), микроорганизмов (ВКМ — ИБФМ РАН, ВКПМ — ГосНИИгенетика) и др.

- Контроль рисков биобезопасности: антропогенное воздействие на генофонд, патогены и др.

#### 4.12. Биоинформатика.

- Геномная биоинформатика (анализ генетических последовательностей и аннотация геномов).

- Структурная биоинформатика (разработка алгоритмов и программ для предсказания пространственной структуры белков).

- Обеспечение системной биологии.

- Сопровождение медицины Р4 (Personalized, Preventive, Predictive, Participatory).

- Вычислительная эволюционная биология.

- Специализированные базы данных.

В русле обозначенных стратегических линий формируется по программно-целевому принципу система мероприятий, которая предусматривает решение конкретных задач, взаимосвязанных и скоординированных по времени, ресурсам и исполнителям, включая научно-исследовательские и опытно-конструкторские работы, материально-техническое, кадровое, информационное, нормативно-правовое и экономическое обеспечение.

Система мероприятий разбивается на отобранный перечень проектов, по которым составляются соответствующие бизнес-планы и целевые показатели. В рамках каждого проекта методологически предусматривается реализация подпроектов, тем, заданий, объединяемых по принципу триединства «науки — образования — практики». В зависимости от целевых установок проекта расставляются должные акценты в комплексе данных трех атрибутов современного технологического уклада, соответствующего мировым стандартам R&D (Research and Development).

В целом Стратегия как общий план действий обязательно прорабатывается по всем уровням управления в соответствии с общепринятыми нормами программно-целевого подхода с использованием диверсифицированных схем и адаптированных к конкретным случаям наборов мероприятий. При этом будут применяться новейшие разработки в области стратегии государства, стратегического планирования, стратегического менеджмента, адаптивного управления и т.д.

### 5. Механизмы реализации

Главным условием реализации Стратегии является эффективное, взаимодополняющее сотрудничество государственных, общественных и бизнес-структур. Механизм государственно-частного партнерства к настоящему времени обозначен в концептуальном плане, однако в каждом конкретном случае он требует специ-

альной адаптации и отбора оптимальных вариантов. Обязательно максимальное использование существующих и разрабатываемых государством целевых программ в сфере биотехнологии и сопряженных специальностей, создаваемых технологических платформ (ТП), а также международных программ (СНГ, ЕврАзЭС и др.).

ТП создаются в соответствии с решением Правительственной комиссии по высоким технологиям и инновациям от 3 августа 2010 г., протокол № 4. (Приложение № 5). В настоящее время подготовлены предложения по созданию двух ТП в сфере биотехнологии: «Биотех2030» и «Биоэнергетика». Прямое отношение к биотехнологии имеет также ТП «Медицина будущего». Представляется, что в дальнейшем по каждому направлению биотехнологии должна быть создана своя ТП (или субплатформа в рамках более широкой ТП). Не исключено формирование нескольких платформ с более узкой специализацией в рамках одного направления (например, в Германии направление по химической биотехнологии представлено 5 технологическими платформами, объединенными в рамках координирующей структуры «Биоиндустрия-2021»).

ТП могут сыграть важную роль в организации государственно-частного партнерства, координации действий участников. Они могут стать основой при формировании ГЦП и реализации Стратегии развития биотехнологической отрасли в целом.

Минпромторгом России в развитие Концепции долгосрочного социально-экономического развития Российской Федерации до 2020 года создана Стратегия «ФАРМА-2020», в которой определен раздел посвящен биофармацевтике. Это нужно учитывать при разработке проектов соответствующего направления Стратегии «БИО-2020»<sup>©</sup>.

Общая схема реализации Стратегии развития биотехнологической отрасли представлена на рисунке 1. Она не подразумевает четкой иерархии и субординации, а скорее всего имеет в виду системный или сетевой принцип взаимодействия.

Преимуществом Стратегии, как и любого аналогичного документа в виде зарубежных прототипов (платформ, планов действий, дорожных карт, стратегий и т.д.), является его интегральная широкомасштабная проработка без излишней детализации. При создании документов, нацеленных на ускоренное решение сверхактуальной, жизненно важной проблемы (а биотехнология к ней относится), принято однозначно определять главную цель и соответствующее полное древо целей (субстратегии).

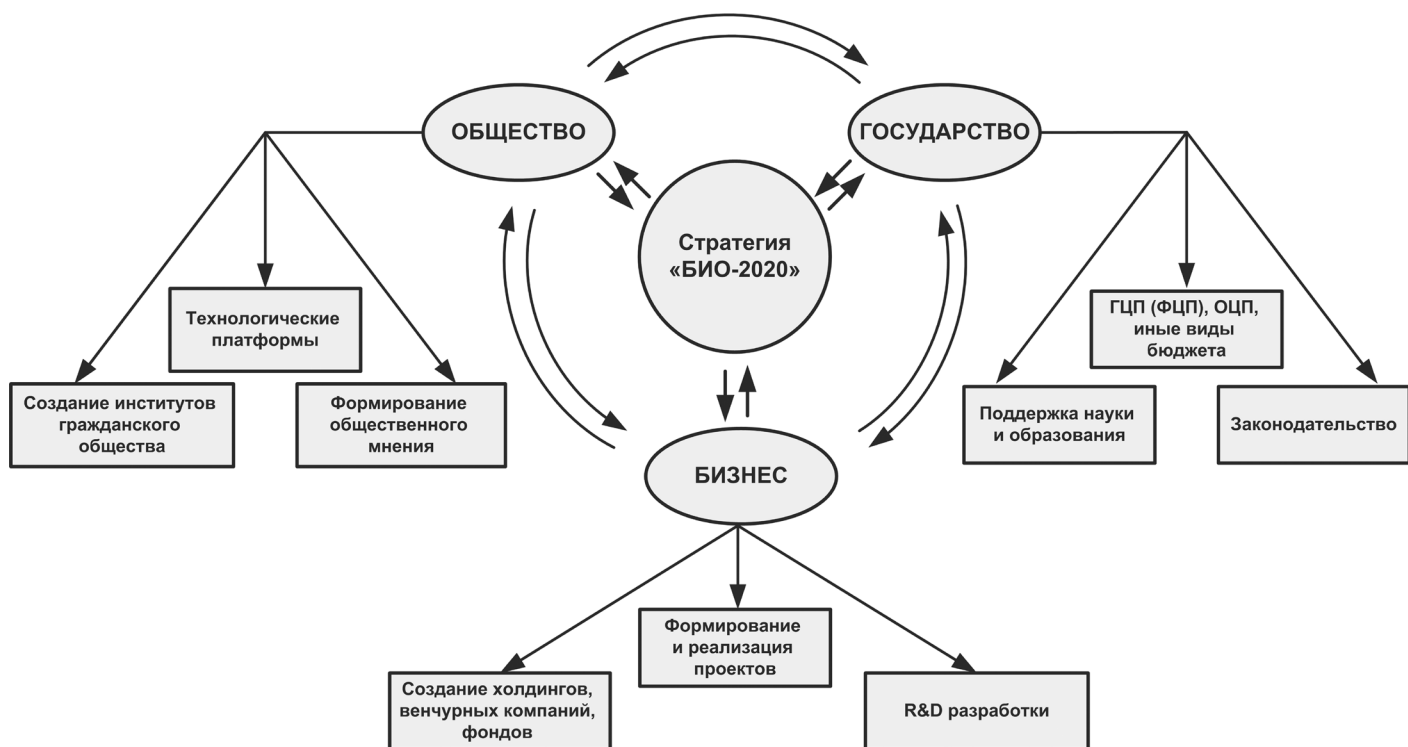


Рис. 1. Принципы реализации Стратегии развития биотехнологической отрасли промышленности Российской Федерации до 2020 года (Стратегия «БИО-2020»<sup>©</sup>)

От верно выбранного перечня приоритетов фактически зависит результативность планируемой Стратегии.

Из опыта реализации Национальной программы «Развитие биотехнологии в Российской Федерации на 2006–2015 гг.»<sup>©</sup> следует, что необходимой предпосылкой к достижению полезного результата является адекватный предварительный экспертный отбор проектов с наибольшей степенью готовности к осуществлению, с общей социально-экономической востребованностью и заинтересованностью исполнителей, то есть определенное ранжирование проектов.

Общий план действий в рамках Стратегии предусматривает такой механизм, как реализация проектов независимо от их степени готовности и гарантированного финансирования. Речь идет о том, что приоритеты сверхвысокого уровня должны немедленно осуществляться как условие достижения долговременной цели.

В связи с этим в настоящей Стратегии определяются приоритеты первого уровня (проекты федерального уровня), второго уровня (проекты регионального уровня), третьего уровня (целевые проекты). Возможны и иные варианты управленческих решений в зависимости от целеполагания.

Реализация Стратегии должна осуществляться на хорошо проработанной законодательной базе. Крайне важно широкое вовлечение заинтересованных участников как в федеральном центре, так и особенно в регионах.

## 6. Ресурсное обеспечение

В случае принятия Стратегии «БИО-2020»<sup>©</sup> и разработки системы программных мероприятий потребуется общий объем финансирования порядка 150–200 млрд. рублей, в том числе за счет средств федерального бюджета 30–40 млрд. руб. (20%), за счет средств бюджетов субъектов РФ – 45–60 млрд. руб. (30%) и за счет средств внебюджетных источников – 75–100 млрд. руб. (50%).

Предполагается, что будут задействованы институты развития (ВЭБ, РОСНАНО, РВК и др.), элементы инновационной инфраструктуры (особые экономические зоны, технопарки, бизнес-инкубаторы, центры трансфера технологий, венчурные фонды и т.п.).

## 7. Целевые показатели

В результате реализации Стратегии планируется выйти на следующие целевые показатели по ключевым биотехнологическим продуктам (табл. 1):



**Показатели производства основных видов биотехнологической продукции  
в России в 2010 г. и прогноз на 2020 г.**

Сектор (отрасль) экономики/ Основные продукты	Ед. измерения	Объем производства	
		2010 г.	2020 г.
<b>ФАРМАЦЕВТИКА</b>			
Жизненно важные биофармпрепараты – дженерики	импортозамещение, %	5	50
• вакцины	импортозамещение, %	20	70
• антибиотики	импортозамещение, %	0	60
• ферменты	импортозамещение, %	5	65
• витамины	импортозамещение, %	5	65
• генно-инженерные ЛС:			
- инсулин	импортозамещение, %	2	35
- эритропоэтин	импортозамещение, %	1	40
- интерфероны	импортозамещение, %	18	50
- гормон роста	импортозамещение, %	5	50
• терапевтические моноклональные и рекомбинантные антитела	импортозамещение, %	0,1	25
Инновационные биофармпрепараты:	импортозамещение, %	0,5	15
Диагностикумы	импортозамещение, %	25	50
<b>АГРАРНЫЙ СЕКТОР</b>			
Кормовые добавки:			
• аминокислота лизин	тыс. тонн	0	50,0
• аминокислота треонин	тыс. тонн	0	5,0
• аминокислота триптофан	тыс. тонн	0	3,0
• пробиотики и синбиотики	тыс. тонн	1,0	10,0
• премиксы	тыс. тонн	119,0	500,0
• кормовые ферменты	усл. тыс. тонн	2,0	8,0
• биотехнологический кормовой белок (кормовые дрожжи)	тыс. тонн	100,0	500,0
Антибиотики кормовые	усл. тонн	20,0	350,0
Средства защиты и стимуляции роста растений	усл. тыс. тонн	2,0	10,0
Вакцины	импортозамещение, %	30	60
ГМО	импортозамещение, %	0	20,0
<b>ПРОДУКТЫ ПИТАНИЯ</b>			
Ферменты	импортозамещение, %	5	20
Функциональные пищевые ингредиенты:			
• глюкозно-фруктозные сиропы	млн. тонн	0,15	1,5–2,0
Пищевой белок	импортозамещение, %	10	70

<b>ХИМИЧЕСКАЯ ПРОМЫШЛЕННОСТЬ</b>			
Органические кислоты	тыс. тонн	2,5	100,0
Биополимеры, биопластики	тыс. тонн	0	50,0
<b>ЭНЕРГЕТИКА И ТЭК</b>			
Биодобавки к моторному топливу	%	0	5–10
Биогаз	млрд. куб. м	0,01	1,5
Пеллеты	млн. тонн	1,1	10,0

\* *Примечание:* Экспертные оценки сделаны на основе данных, представленных АНО «Информационно-аналитический центр медико-социальных проблем»

## 8. Социально-экономическая эффективность.

### Прогноз

Проведенный форсайтный анализ показал, что социальный эффект от реализации Стратегии «БИО-2020»<sup>©</sup> при достижении намеченных целевых показателей будет значительным (решение проблем трудоустройства, сохранения квалифицированных кадров, обеспечение населения оптимальным питанием и жизненно необходимыми лекарственными средствами, решение экологических проблем и т.д.).

Прогнозируется высокая экономическая эффективность осуществления Стратегии в связи с рентабельностью биотехнологических производств. Согласно прогнозам Организации экономического сотрудничества и развития, к 2030 году доля биоэкономики в ВВП развитых стран составит не менее 2,7%, а в развивающихся — существенно больше.

В случае реализации Стратегии «БИО-2020»<sup>©</sup> сектор инновационной биоэкономики Российской Федерации может составить к 2020 году около 1% ВВП, что превысит уровень 2010 года примерно в 10 раз.

Основные риски, которые могут не позволить достичь целевых показателей:

- недостаточная проработка бизнес-проектов;
- недостаточное финансирование НИОКР и бизнес-проектов;
- риски нормативной базы и инфраструктуры;
- неэффективное управление реализацией Стратегии;
- негативное отношение общества, государственных структур к биотехнологии в целом и к Стратегии «БИО-2020»<sup>©</sup>, в частности.

## 9. Заключение

Представленный документ Стратегия «БИО-2020»<sup>©</sup> отражает позицию экспертного и бизнес

сообщества и может стать основой для выработки государственной стратегии развития биотехнологической отрасли Российской Федерации на долгосрочную перспективу.

Необходимым условием для реализации стратегии развития биотехнологической отрасли является формирование координирующей структуры высокого уровня, представляющей государственные органы, бизнес и общественные экспертные организации.

Совместные усилия этих заинтересованных участников при поддержке всего общества позволят нашей стране обеспечить развитие данного приоритетного научно-практического направления, восстановить, по крайней мере, свои позиции в мировой биоиндустрии, которые были достигнуты в 80-е годы XX века (5% мирового объема), и выйти на новые рубежи, соответствующие потенциалу России как ведущей державы.

### К документу добавлено 5 приложений:

*Приложение 1.* Национальная программа «Развитие биотехнологии в Российской Федерации на 2006–2015 гг.».

*Приложение 2.* Дорожные карты Стратегии «БИО-2020»<sup>©</sup>:

- Дорожная карта развития «красной» биотехнологии в Российской Федерации до 2020 года;
- Дорожная карта развития «зеленой» биотехнологии в Российской Федерации до 2020 года;
- Дорожная карта развития «белой» биотехнологии в Российской Федерации до 2020 года.

*Приложение 3.* Программа развития биотехнологии в Республике Татарстан до 2020 г.

*Приложение 4.* Стратегия «Чувашия — биорегион» до 2020 г.

*Приложение 5.* Порядок формирования перечня технологических платформ.

## **STRATEGY FOR THE DEVELOPMENT OF THE BIOTECHNOLOGY INDUSTRY OF THE RUSSIAN FEDERATION UNTIL 2020**

R.G. VASILOV<sup>1</sup>, V.I. TRUBNIKOV<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Yu.A. Ovchinnikov Russian Biotechnology Society,*

<sup>2</sup> *Russian Biotechnology Association, Moscow*

Submitted the final text of the Strategy of development of biotechnology industry of the Russian Federation until 2020 (the Strategy Bio-2020<sup>®</sup>). This material is thoroughly discussed and approved by the Russian Biotechnology Association and the Yu.A. Ovchinnikov Russian Biotechnology Society.

*Keywords:* biotechnology, development strategy until 2020, the Russian Federation.

## СИНТРОПИИ И ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА

В.П. ПУЗЫРЕВ\*

*НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН, Томск*

Проблема персонализированной медицины рассматривается в контексте синтропий, то есть сочетаний двух и более патологических состояний. Приводятся данные о хронологии секвенирования персональных геномов, о результатах исследований с помощью методов GAS и GWAS, о критериях ранжирования синтропных генов для континуума сердечно-сосудистых и аллергических заболеваний.

*Ключевые слова:* персонализированная медицина, синтропии, медицинская генетика.

Прогресс медицинской генетики открывает большие возможности перед современным здравоохранением. Важно при этом не забывать тот путь, который прошло научное познание проблем здоровья и болезни от пророческих высказываний античных ученых до персонализированной медицины XXI века. Клавдий Гален (130–200 гг. н.э.) говорил: «Однако всегда нужно помнить, что ни одна внешняя причина не является эффективной сама по себе без предрасположенности организма. В противном случае, внешние причины, действующие на одного, действовали бы на всех...». Классические установки русских терапевтов XIX столетия (Мудров В.Я., Боткин С.П.) на то, чтобы лечить не болезнь, а больного, также заставляли медиков думать о внутренних адаптивных механизмах организма. При этом несмотря на общий план структуры и функции того или иного индивида отмечается чрезвычайная индивидуальная вариабельность физических особенностей человеческих популяций, не говоря уже о неповторимости духовного мира каждой отдельно взятой личности. По-видимому, не случайно выдающийся канадский врач Уильям Ослер в 1892 году заявил: «Если бы не эта огромная межиндивидуальная изменчивость, медицина могла бы быть наукой, а не искусством».

Нельзя утверждать, что многие проблемы, пришедшие из прошлого медицинской теории и практики, автоматически устраняются с появлением так называемой

«медицины будущего», которую в настоящее время связывают с персонализированной медициной.

Термин «персонализированная медицина» (или «медицина P4») предложен Лероем Худом. Она содержит четыре составных части:

- Predictive («Предсказательная»);
- Preventive («Профилактическая»);
- Participatory («Патисипаторная» — от англ. слова «participate» — «участвовать»);
- Personalized («Персонализированная»).

Само по себе возникновение персонализированной медицины стало возможным благодаря бурному прогрессу молекулярной биологии во второй половине XX столетия и особенно тому существенному рывку, который был сделан с помощью использования геномных технологий в 90-х годах — первом десятилетии нового века.

Главными этапными вехами здесь являются следующие события:

- 1990–2003 гг.: реализация проекта «Геном человека», 3 млрд. нуклеотидов: SNP — Single Nucleotide Polymorphisms (стоимость \$300 млн.);
- 2002–2010 гг.: проект HarMap, каталог частых полиморфизмов, — 6 млн. SNP, 270 человек, 4 популяции;
- 2007–2010 гг.: индивидуальные геномы — 14 персональных геномов к февралю 2010 г., в том числе геном К. Вентера, 2007 (\$10 млн.) и сиквенс на наночипах, 2010 (\$1700);
- 2008–2011 гг.: проект «1000 геномов» — 2000 полных геномов, 4 «популяции» (Африка, Европа, Азия, Америка);
- прогноз на 2015 г.: геном каждого при рождении (стоимость \$100?).

Уже можно рассмотреть хронологию персональных геномов (табл. 1).

© 2010 г. Пузырев В.П.

\* **Автор для переписки:**

Пузырев Валерий Павлович, академик РАМН,  
директор НИИ медицинской генетики ТНЦ СО РАМН  
634050 Томск, Набережная Ушайки, 10  
Тел.: (3822) 51-22-28  
Факс: (3822) 51-37-44  
E-mail: valery.puzurev@medgenetics.ru

Таблица 1

**Хронология персональных геномов**

№ п/п	Дата публикации (подачи)	Индивид	Стоимость/ Примечание
1	2007, октябрь (9 мая 2007)	Крейг Вентер (м)	\$10 млн.
2	2008, апрель (3 декабря 2007)	Джеймс Дьюи Уотсон (м)	\$2 млн.
3	2008, ноябрь (28 мая 2008)	Евро-американка с острой миелоидной лейкемией (ж)	\$1 млн.
4	2008, ноябрь (24 июня 2008)	йоруба (NA18507) (м)	\$250,000
5	2008, ноябрь (21 августа 2008)	китаец (Yanhuang, YH) (м)	\$500,000
6	2009, май (3 февраля 2009)	кореец Seong-Jin Kim, SJK (м)	
7	2009, июнь (1 февраля 2009)	йоруба (NA18507) (м)	
8	2009, август (6 марта 2009)	Кореец, АК1 (м)	
9	2009, август (10 июня 2009)	Европеоид США, P0 (м)	Сиквенс с 1 молекулы \$48,000
10	2009, декабрь	Русский, рак почки (м)	
11	2010, январь (3 сентября 2009)	Европеоид (NA07022) (м)	\$8,000
12	2010, январь (3 сентября 2009)	Йоруба (NA19240) (ж)	\$3,400
13	2010, январь (3 сентября 2009)	Европеоид (NA20431) (м)	\$1,700
14	2010, февраль (30 ноября 2009)	Палео-эскимос, Saqqaq	Древняя ДНК (4000 лет)

Интересно, что в этом списке фигурирует имя Дж. Уотсона, лауреата Нобелевской премии, открывшего спиральную структуру ДНК. Расшифровка генома Уотсона длилась 2 месяца и обошлась в 2 млн. долларов. Ее осуществили компании 454 Life Sciences и BCM Human Genome Sequencing Center и представили в виде подарка знаменитому 79-летнему ученому, в геноме которого был обнаружен ряд отклонений, в частности, известная мутация, вызывающая рак кожи.

Одним из направлений геномных исследований является этнический аспект. При этом ставится задача перехода от генома к фенотипу и изучения риска развития мультифакториальных заболеваний (МФЗ).

Так, например, первый азиатский полный геном был секвенирован в Пекинском институте геномных исследований в ноябре 2008 года. В геноме китайца YH было найдено 3074097 SNP, из них определены SNP, ассоциированные с некоторыми МФЗ (табл. 2).

Таблица 2

**SNP, ассоциированные с некоторыми мультифакториальными заболеваниями**

Болезнь	Число известных генов	Число известных SNP	SNP в геноме китайца YH	
			число	%
Болезнь Альцгеймера	7	16	10	62,5
Диабет	26	46	7	15,2
Гипертония	8	10	1	10
Ожирение	6	27	1	3,7
Болезнь Паркинсона	7	11	1	9,1
Гиполактазия	1	2	0	0
Алкоголизм	3	3	0	0
Табачная аддикция	7	19	12	63,2

В геноме корейца АК1 (секвенирован в 2009 году) были выявлены 773 SNP, потенциально связанных с болезнями, по материалам трех баз данных и литературы:

1. База данных по мутациям в генах человека (HGMD):

- CYP2D6: сниженный метаболизм дебрисокина;
- KIF6: сниженный ответ на статины;
- NRG1: болезнь Альцгеймера.

2. База банных менделевских болезней (OMIM):

- ADD1: соль-чувствительная гипертония;
- ADRB2: астма, сниженная эффективность бета-2 агониста LOXL1: глаукома;
- MTHFD1: дефекты нервной трубки;
- NDUFV2: болезнь Паркинсона;
- SLC390A8: диабет типа 2;
- SP110: туберкулез;
- UGT1A1: синдром Гилберта.

3. База данных SNPedia:

- Повышенный риск диабета типа 2;
- Повышенный риск рака простаты;
- Высокая эффективность розиглитазона;
- Устойчивость к варфарину;
- Лучший ответ на циталопрам.

4. Прочие данные:

- DRPD: токсичность флуорацила;
- HLA-A,B: гиперчувствительность к абакавиру;
- RTRN22: ревматоидный артрит.

Очень показательна диаграмма, подготовленная Rasmussen M. et al. (2010), демонстрирующая суммарную частоту SNP, определяющих риск развития МФЗ (рис. 1).

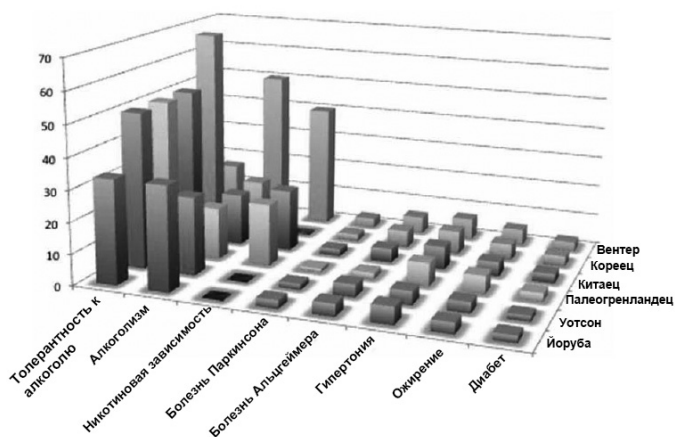


Рис. 1. Суммарная частота SNP, определяющих риск развития мультифакториальных заболеваний.

Источник: Rasmussen M. et al., 2010

Несмотря на очевидные успехи геномных исследований сегодняшний уровень тестирования наследственной подверженности к комплексным свойствам человека — это лишь начальный этап проникновения в terra incognita наших геномов. Здесь имеется ряд сложностей:

- Не более 30–38% имеющихся утверждений о значимых генетических ассоциациях является на самом деле истинными.
- Большая часть истинных генетических ассоциаций представляет собой эффекты небольшой величины с рисками 1,1–1,5 (то есть 10–15% относительно увеличения вероятности развития заболевания).
- Любой отдельный полиморфизм обычно объясняет только 1–10% от общего риска заболевания в популяции.
- Существует значительная доля «недостающей наследственности» (missing heritability) — несоответствия между степенью семейного накопления ( $h^2$ ) и идентифицированными вариантами генов подверженности.

Так что не является неожиданным заключение из «Рекомендаций ESHG» (European Society of Human Genetics: Европейское общество генетики человека), март 2009 г.: «Тестирование предрасположенности к мультифакториальным заболеваниям имеет ограниченную клиническую значимость и достоверность».

Как отмечалось, существует мнение, что большая часть генетических ассоциаций представляет эффекты небольшой величины с риском 1,1–1,5. Однако накапливаются данные о значительных эффектах отдельных генетических маркеров в отношении конкретных болезней. Нередко вклад генетических маркеров сопоставим с вкладами традиционных факторов риска болезней. Кроме того, аддитивный эффект нескольких рисков полиморфизмов генов может составлять до 20–70% общего риска, обусловленного генетическими факторами.

В свете вышесказанного целесообразно обсудить значение понятия синтропии. Термин предложен в 1921 году немецкими педиатрами М. Пфаундлером и Л. фон Зетом, которые, анализируя проблему полипатии — проявления у одного больного нескольких заболеваний одновременно, на основании информации о 30 тыс. историй болезней, выдвинули концепцию синтропных и дистропных болезней, обозначив синтропией взаимную склонность двух болезненных состояний к совместному проявлению, а дистропией — «взаимное отталкивание» болезней (Pfaundler M., von Seht L. Weiteres ueber Syntropie kindlicher Krankheitszustande // Zeitschr. f.

Kinderheilk. 1921. Bd. 30. S. 298–313.). По их мнению, объединяющим началом синтропий является общий патогенез. Аналогичные соображения были высказаны в конце XIX века французским патологом Ш. Бушаром (Bouchard Ch.) в его концепции «артритизма».

В узком смысле синтропия означает сочетанное действие (от греч. «син» – «вместе» + «тропе» – «поворот, превращении»). В широком смысле в контексте современных представлений – природно-видовое явление сочетания двух и более патологических состояний (нозологий или синдромов) у индивидуума и его ближайших родственников, неслучайное и имеющее эволюционно-генетическую основу.

Синтропии – это часть (выборка) фенома человека, представляющего собой ландшафт взаимодействующих признаков и болезней, отражающего непрерывающуюся молекулярно-генетическую причинность.

Синтропные гены являются набором функционально взаимодействующих генов, локализованных во всем пространстве генома человека, корегулируемых генов, вовлеченных в общий для данной синтропии метаболический путь.

В сети HuGENet на март 2010 года содержится информация о 49466 публикациях, 1347 мета-анализах, 3910 фармакогеномных анализах, 44790 GAS (генетических ассоциативных исследований), 618 GWAS (полногеномных ассоциативных исследований). Изучены 6471 ген, 2164 болезни, Общее число исследователей – 45000 человек.

В HuGENet представлен критерий ранжирования генов, ассоциированных с болезнью.

$$\text{Балл} = \frac{N}{\sum N_i} + \frac{GA}{\sum GA_i} + \frac{GWAS}{\sum GWAS_i} + \frac{MA}{\sum MA_i} + \frac{GT}{\sum GT_i}$$

где

$N$  – общее число статей в базе, в которых изучался данный ген при данной болезни (один или наряду с другими);

$\sum N_i$  – общее число статей в базе, посвященных данной болезни;

$GA$  – число генетических ассоциативных исследований с участием данного гена при данной болезни (GASs – genetic association studies);

$\sum GA_i$  – общее число ассоциативных исследований для данной болезни;

$GWAS$  – число полногеномных ассоциативных исследований с участием данного гена при данной болезни (GWASs – genomewide association studies);

$\sum GWAS_i$  – общее число полногеномных ассоциативных исследований для данной болезни;

$MA$  – число статей по мета-анализу ассоциаций с участием данного гена при данной болезни ( $MA$  – meta-analysis);

$\sum MA_i$  – общее число статей по мета-анализу ассоциаций при данной болезни;

$GT$  – число статей по генетическому тестированию с участием данного гена при данной болезни ( $GT$  – genetic test);

$\sum GT_i$  – общее число статей по генетическому тестированию при данной болезни.

В HuGENet имеется информация о ряде целенаправленных исследований в рамках синтропий. Так, в группе заболеваний так называемого «сердечно-сосудистого континуума»: эссенциальная гипертония (ЭГ); коронарная болезнь (КБ); сахарный диабет, тип 2 (СД2); ожирение (Ож); инсульт (Ин); дислипидемия (Дл); метаболический синдром, X (МС) – было исследовано 2110 генов. Распределение этих генов по различным нозологиям представлено на рисунке 2.

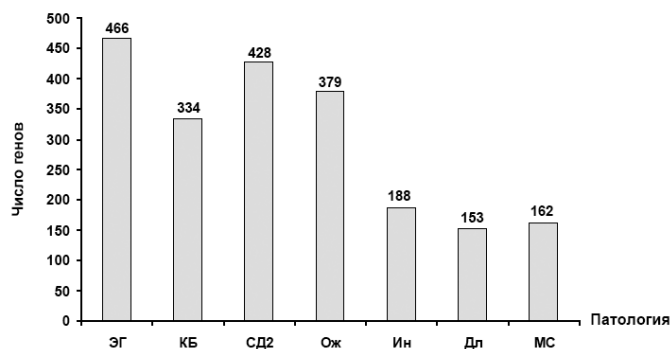


Рис. 2. Распределение генов для синтропии сердечно-сосудистого континуума (сокращения см. в тексте)

Были установлены синтропные гены для континуума сердечно-сосудистых заболеваний (табл. 3).

В HuGENet также исследованы гены (всего 927) для синтропии аллергических заболеваний (АЗ): лекарственная аллергия (ЛА); пищевая аллергия (ПА); аллергический ринит (АР); атопический дерматит (АД); полиноз (П); крапивница, отек Квинке (К/ОК); бронхиальная астма (БА) (рис. 3).

Выявлены синтропные гены аллергических заболеваний и IgE (табл. 4). Пять генов оказались общими для всех АЗ и IgE: HLAQB1, HLADRB1, IL4, IL4RA, MS4A2. Эти гены могут быть названы синтропными

применительно к АЗ. Кроме того, еще пять генов — HLADQA1, LTC4S, IL13, IL10, TGFB1 — были общими для IgE и всех АЗ, кроме одного: HLADQA1 и LTC4S не связаны с ПА, IL13 — с К/ОК, IL10 и TGFB1 — с П. Учитывая, что одним из обстоятельств, осложняющих такого рода анализ, является недостаточная изученность генов в отношении конкретной патологии, можно предположить, что эти пять генов также синтропны для АЗ. Действительно, при анализе литературы в базе данных HuGE Navigator не найдено ни одного сообщения, указывающего на ассоциацию HLADQA1 и LTC4S с ПА, IL13 — с К/ОК, IL10 и TGFB1 — с П.

Для обобщенной характеристики наследственной компоненты разных АЗ по данным HuGE Navigator использовали кластерный анализ, дифференцирующий АЗ по группам на основании общности и специфичности ассоциированных с ними генов. Выявлено два крупных кластера (рис. 4): первый включает в себя IgE, БА и

АД, второй — другие заболевания. При этом второй кластер разбивается на два подкластера: в первый входят сезонные АЗ — АР и П, во второй — К/ОК, ПА и ЛА.

Очевидно, что кластеризация IgE и АЗ во многом совпадает с имеющимися представлениями об этиологии и патогенезе этих заболеваний, а также с принятой в клинической практике системе диагностики АЗ.

Таким образом, в заключение можно привести парадигмы генетического тестирования предрасположенности к мультифакториальным заболеваниям в связи с перспективами развития персонализированной медицины:

1. Если мораль и «абсолютное» знание представляют идеальный мир, то клиническая практика — мир реальный.
2. Генетическое тестирование (ГТ) — это продвижение навстречу к тому, что никогда не определится до конца и не станет простой областью применения и простым предметом изучения.

Таблица 3

#### Синтропные гены для континуума сердечно-сосудистых заболеваний

№ п/п	Ген	Продукт гена	Хромосомная локализация
1	ABCA1	АТФ-связывающий кассетный транспортер 1	19q22-q21
2	ACE	Ангиотензин I-превращающий фермент	17q23
3	ADIPOQ	Адипоцит-специфический секреторный белок	3q27
4	ADRB2	$\beta 2$ -адренергический рецептор	5q32-q34
5	AGT	Ангиотензиноген	1q42-q43
6	AGTR1	Ангиотензиновый рецептор	13q21-q25
7	APOA1	Аполипопротеин А1	11q23
8	APOE	Аполипопротеин Е	19q13.2
9	CEPТ	Транспортный белок холестерина эфира	16q21
10	ESR1	Эстрогеновый рецептор	16q25.1
11	GNB3	Бета-3 G-связывающий белок	12p13
12	IL6	Интерлейкин-6	7p21
13	LIPC	Печеночная липаза С	15q21-q23
14	LPL	Липопротеиновая липаза	8p22
15	LTA	Лимфотоксин- $\alpha$	6p21.3
16	MTHFR	Метилентетрагидрофолат редуктаза	1p36.3
17	NOS3	Эндотелиальная NO-синтаза	7q36
18	PPARG	Рецептор- $\gamma$ -активируемый пероксисомным пролифератором	3p25
19	SERPINE1	Ингибитор 1 активатора плазминогена	17q21.3-q22
20	SELE	Селектин Е	1q23-q25
21	TNF	Фактор некроза опухолей $\alpha$	6p21.3



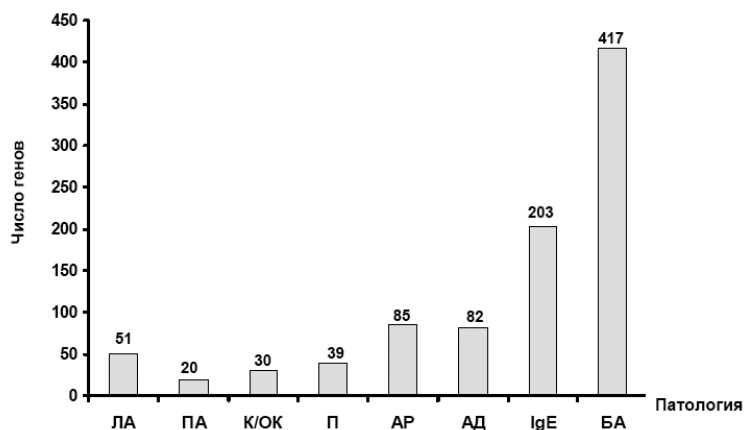


Рис. 3. Распределение генов для синтропии аллергических заболеваний (сокращения см. в тексте)

Таблица 4

**Синтропные гены аллергических заболеваний и IgE**

№ п/п	Ген	Продукт гена	Хромосомная локализация	Величина балла*
1	IL13	Интерлейкин 13	5q31	0,198 (0,109–0,625)
2	IL4RA	$\alpha$ -цепь рецептора к интерлейкину-4	16p12.1-p11.2	0,177 (0,081–0,338)
3	HLA-DRB1	Антиген гистосовместимости II класса DR $\beta$ 1	6p21.3	0,166 (0,044–0,486)
4	IL4	Интерлейкин 4	5q31.1	0,165 (0,045–0,311)
5	HLA-DQB1	Антиген гистосовместимости II класса DQ $\beta$ 1	6p21.3	0,121 (0,044–0,338)
6	LTC4S	Лейкотриен-С4-синтаза	5q35	0,096 (0,022–0,256)
7	IL10	Интерлейкин 10	1q31-q32	0,092 (0,023–0,153)
8	MS4A2	Fc-фрагмент высокоаффинного рецептора IgE	11q13	0,083 (0,022–0,167)
9	TGFB1	Трансформирующий ростовой фактор $\beta$ 1	19q13.2	0,055 (0,015–0,113)
10	HLA-DQA1	Антиген гистосовместимости II класса DQ $\alpha$ 1	6p21.3	0,053 (0,019–0,081)

\* Среднее значение и размах (в скобках) величин балла (score), показателя степени доказанности связи гена с заболеванием, рассчитываемого программой HuGE Navigator, для исследованных АЗ; гены в таблице упорядочены в порядке уменьшения среднего значения балла

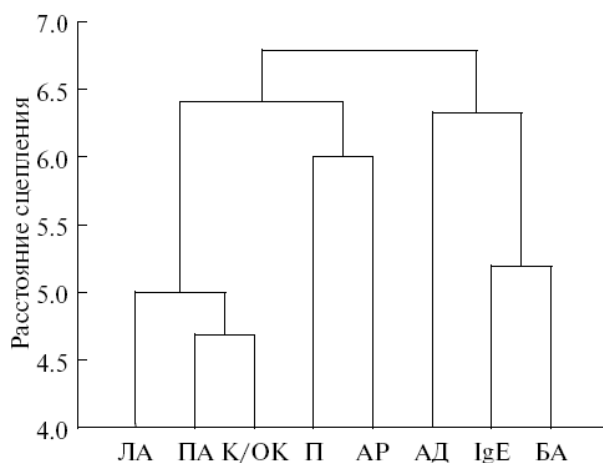


Рис. 4. Кластеризация аллергических заболеваний по общности ассоциированных генов (сокращения см. в тексте)

3. Для успешного продвижения ГТ необходима реконструкция взаимных ожиданий врачей, исследователей и пациентов.
4. Клиническая практика должна опираться на доказательную медицину, но последняя — это процесс пожизненного совершенствования ради обеспечения качественной помощи пациенту.
5. ГТ не вместо, а вместе с фенотипическими маркерами могут уже сегодня быть учтены в персонализированном прогнозе, всегда вероятностном.

*Материалы доклада на II Международном конгрессе «ЕвразияБио-2010» (Москва, 12–15 апреля 2010 г.)*

## SYNTROPIES AND PERSONALIZED MEDICINE

V.P. PUZYREV

*Institute of Medical Genetics TSC SB RAMS, Tomsk*

The problem of personalized medicine is considered in the context of syntropy, that is, combinations of two or more pathological conditions. The data on the chronology of personal genome sequencing, the results of studies using the methods of GAS and GWAS, the criteria for ranking syntropy genes for the continuum of cardiovascular diseases and allergic diseases.

*Keywords:* personalized medicine, syntropy, medical genetics.

## НАЦИОНАЛЬНАЯ СЕТЬ БИОЛОГИЧЕСКОГО СКРИНИНГА (НСБС) В РОССИИ: КОНЦЕПЦИЯ, НОВЫЕ ПАРАДИГМЫ, БИОЛОГИЧЕСКАЯ КОМПОНЕНТА

В.Н. ДАНИЛЕНКО\*

*Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва*

В работе обсуждается значение создания национальной сети биоскрининга в России в контексте реализации концепций Стратегии «Фарма 2020». Подробно рассматривается вопрос об ингибиторах протеинкиназ человека как основы для создания новых лекарств для лечения онкологических, иммунных, нейродегенеративных заболеваний.

*Ключевые слова:* биофармацевтика, биологический скрининг, национальная сеть России, ингибиторы протеинкиназ.

В последнее время в Российской Федерации предпринимаются кардинальные шаги в деле совершенствования и развития отечественной фармацевтической промышленности. Одним из них является формирование Стратегии «Фарма 2020». В ней на среднесрочную перспективу предусмотрено решение следующих проблем:

1. Научно-технологические задачи:
  - стимулирование разработки и производства инновационных лекарственных средств;
  - осуществление технологического перевооружения российской фармацевтической отрасли.
2. Специфические мероприятия:
  - стимулирование внедрения в практику разработки лекарств передовых технологий, основанных на достижениях «постгеномной эры»;
  - формирование научно-исследовательских центров и кластеров по разработке инновационных лекарственных средств, таких как Национальный центр биологического скрининга;
  - стимулирование приобретения передовых зарубежных разработок лекарств.
3. Конечный результат:
  - создание к 2020 году около 200 инновационных препаратов.

Имеется ряд системных проблем в создании инновационных лекарств в России, которые также предстоит решить. Это, прежде всего, низкий уровень инноваций и технологий, используемых при разработке и производстве лекарств: слабая приборно-технологическая база, кадровые проблемы, отсутствие должной координации, интердисциплинарных усилий, слабое взаимодействие с профильными международными научно-технологическими структурами. Другим существенным моментом является отсутствие в РФ крупных фармкомпаний, способных продвигать разработки.

Следует напомнить историю формирования сети биологического скрининга лекарств в России. Здесь можно выделить три стадии:

- 1975–1984 гг. СССР. Организация центра «Научно-исследовательский институт по биологическому испытанию биологических соединений» в г. Купавна и сети скрининга на его основе (руководитель — академик Л.А. Пирузян);
- 2002–2004 гг. Попытки создания Биофармацевтического холдинга по разработке новых лекарств (инициатор — Министерство промышленности, науки и технологий РФ);
- 2009–2010 гг. Стратегия «Фарма 2020» своей логикой подразумевает формирование Бигфармы в области создания новых инновационных лекарств.

Важно проследить уровни мировой методологии в биофармацевтике, которые последовательно достигались в последние два десятилетия — период, которые принято называть вступлением в «постгеномную эру». Основные принципы создания новых лекарств на основе низкомолекулярных веществ в постгеномную эру таковы.

© 2010 г. Даниленко В.Н.

\* Автор для переписки:

Даниленко Валерий Николаевич,  
доктор биологических наук, профессор,  
заведующий отделом генетических основ биотехнологии  
Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН  
119991 Москва, ул. Губкина, 3  
E-mail: valerid@vigg.ru

### I этап (1992–2002 гг.):

- Химический синтез библиотек веществ определенных классов.
- Выбор, аттестация и валидация новых биомишеней.
- Биоинформационный анализ пригодности определенных групп веществ для скрининга.
- Молекулярный (компьютерный) дизайн отобранных хит-соединений к 3D-структуре биомишени.
- Скрининг, как правило, противораковых препаратов.
- Основной результат I этапа: много биомишеней — мало лекарств; возникновение устойчивости к созданным лекарствам (иманитиб — ингибитор тирозиновой киназы BCR-ABL).

### II этап (2003–2009 гг.):

- Направленный химический синтез ограниченного количества веществ на основе хит-соединений.
- Возврат к получению полусинтетических производных на основе природных веществ.

- Реализация идеи мультитаргетного скрининга, препятствующего возникновению лекарственной устойчивости.
- Массовое исследование взаимодействия кристаллических структур биомишеней и хит-соединений модуляторов.
- Активный поиск новых биомишеней бактерий, ограничивающих возникновение множественной лекарственной устойчивости.

Схема высокопроизводительного биологического скрининга приведена на рисунке 1.

Наиболее популярными биомишенями для скрининга модуляторов активности представляются:

- белки и ферменты сигнал-передающих путей человека и патогенных бактерий;
- серин-треониновые и тирозиновые протеинкиназы человека и патогенных бактерий;
- белки и ферменты апоптоза клеток человека;
- белки вирулентности и патогенеза бактерий (кворум-сенсинг, секреция и др.).



Рис. 1. Схема высокопроизводительного биологического скрининга

В настоящем сообщении главное внимание будет уделено ингибиторам протеинкиназ (ПК). Они являются лекарствами XXI века, поскольку обладают уникальными характеристиками:

- ингибиторы протеинкиназ человека — основа для создания новых лекарств для лечения онкологических, иммунных, нейродегенеративных заболеваний;
- ряд препаратов — блокбастеры на рынке; десятки — на стадии клинических исследований;
- созданы обширные библиотеки синтетических и природных ингибиторов на основе различных классов химических соединений;
- вещества, не действующие на панель протеинкиназ человека, могут быть селективными ингибиторами бактериальных киназ; в дальнейшем планируется провести сравнение адениновых карманов бактериальных и человеческих киназ.

В таблице 1 приведен перечень заболеваний, связанных с протеинкиназами.

Таблица 1

**Болезни, обусловленные нарушениями в функционировании протеинкиназ человека**

Заболевания	Основные семейства протеинкиназ
Злокачественные опухоли	Серин-треониновые: PKC, Raf, MAP, Aurora, CDK, PIM, Akt, DYRK. Тирозинкиназы: Src, рецепторы факторов роста эпителия и сосудов
Иммунологические расстройства	Серин-треониновые: PKC, PKA, Фосфатидилинозитолзависимые ПК
Неврологические расстройства	Серин-треониновые: PKA, Са-кальмодулинчувствительная ПК
Другие нарушения	Диабет: Серин-треониновые — PKC, MAP
Инфекционные и вирусные заболевания	Индукция протеинкиназ, необходимых для развития патогенеза бактерий — Akt, Pim; вирусов — CDK

Таблица 2 содержит данные о бактериальных серин-треониновых протеинкиназах (СТПК), участвующих в развитии инфекционной патологии (у части ПК 3D кристаллическая структура решена, у части ПК 3D структура построена на виртуальной PknB модели).

Таблица 2

**Бактериальные серин-треониновые протеинкиназы и инфекционные болезни человека**

Возбудитель/ Болезнь	Протеинкиназа	Функция
<i>M. tuberculosis</i> / Туберкулез	PknA PknB PknG PknF	Синтез клеточной стенки Клеточное деление Участие в патогенезе Образование биопленок
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> / Сепсис	PpkA	Необходима для вирулентности и выживания в клетках хозяина
<i>Streptococcus agalactiae</i> / Пародонтоз	Stk1	Необходима для вирулентности
<i>Streptococcus pneumoniae</i> / Пневмония	StkP	Необходима для вирулентности, синтез клеточной стенки
<i>Staphylococcus aureus</i> / Сепсис	PknB/Stk1	Необходима для вирулентности, участие в аутолизисе

Протеинкиназы относятся к киназам (фосфотрансферазам) — ферментам, осуществляющим реакцию фосфорилирования. Их изучением занимается киномика. Кином человека — совокупность киназ человеческого организма. Кином бактерий является совокупностью всех (серин-треониновых) киназ определенной группы бактерий. Надо отметить, что в подавляющем большинстве случаев функции бактериальных киназ неизвестны.

В отношении продуцентов ингибиторов киназ выяснено, что к ним относятся *Rhodococcus*, *Saccharopolyspora*, *Streptomyces*, *Thermobifida*.

Открытие новых биомишеней — это залог успеха в конкурентной борьбе на рынке новых лекарств. В этом направлении наиболее перспективны следующие направления:

- F<sub>0</sub>F<sub>1</sub> АТФ-синтазный комплекс человека и бактерий — перспективный объект для идентификации и валидации новых субмишеней.
- Серин-треониновые протеинкиназы *Mycobacterium tuberculosis* — поиски новых подходов для скрининга ингибиторов.
- Системы запрограммированной гибели (апоптоза) клеток бактерий — новый источник биомишеней для воздействия лекарств.
- Системы токсин-антитоксин бактерий — возможное оружие самоуничтожения патогенных возбудителей.

- Регуляторные белки, определяющие множественную лекарственную устойчивость.
- Белки и ферменты формирования биопленок, персистенции бактерий.

В работе по поиску новых биомишеней важно соблюдать принципы тест-системы для прескрининга ингибиторов бактериальных протеинкиназ:

- Селекция и методы конструирования тест-системы.
- Аттестация тест-системы: функциональность и селективность по отношению к ингибиторам ПК.
- Валидация тест-системы: адекватный ответ по отношению к стандартным ингибиторам ПК.
- Тестирование библиотек выбранных классов ингибиторов ПК.
- Согласование новой тест-системы с другими элементами панели для селекции ингибиторов ПК.

Ключевой элемент тест-системы — аминоксидфосфотрансфераза АРНVIII. Было продемонстрировано, что фосфорилирование сайта  $S_{146}$  повышает активность АРНVIII *in vitro*.

В исследованиях автора с сотрудниками было обнаружено, что индолилмалеимиды являются ингибиторами эукариотических ПК. Показано также, что они могут быть потенциальными ингибиторами бактериальных ПК (Даниленко В.Н. с соавт., 2008). В качестве перспективных потенциальных ингибиторов бактериальных ПК рассматриваются и соединения, полученные от академика В.Н. Чарушина, которые относятся к химическим классам: карборанов — LGL-gd21, мол. м. 406,49, цитотоксичность на линии клеток НСТ116 карциномы кишечника  $>50$ ; бензодиазепинов — LA-VN-10, мол. м. 272,30, цитотоксичность  $>50$ ; хиноксалинов — BMV-2-37, мол. м. 251,24, цитотоксичность  $>50$ .

Надо подчеркнуть, что основа успеха в создании новых лекарств — сотрудничество химиков, биологов и компьютерных дизайнеров. Благодаря такой интеграции усилий синтезированы десятки тысяч новых веществ многих групп: бензодиазины, бензофалазины, карбораны, циклопентендионы, индолилмалеимиды, пиридазины, пиразолы, хиноксалины, тиазолы, тиазолтетразины (НИИНА РАМН, УрО РАН), создана уникальная технологическая панель для скрининга лекарств для лечения социально значимых заболеваний человека (ИОГен РАН, НИЦ «БИОАН»), отобраны уникальные вещества для лечения раковых заболеваний, туберкулеза и др.

Российская наука обладает сильными сторонами для успешной реализации рассматриваемого проекта:

- Большими библиотеками низкомолекулярных соединений для скрининга и классными школами медицинских химиков.
- Успешными и профессиональными специалистами в области компьютерного дизайна лекарств, мощной базой суперкомпьютеров.
- Достижениями в области характеристики новых биомишеней и конструирования тест-систем для скрининга.
- Наличием в России такой структуры, как Академия наук, которая организационно объединяет междисциплинарные коллективы различных регионов России, что позволяет быстро сконцентрировать усилия на нужном инновационном направлении.

Для того чтобы реализовать перечисленные преимущества, стоит актуальная задача убедить правительственные структуры в необходимости безотлагательного принятия решения о начале реализации проекта.

В заключение необходимо указать на те возможности, которые открывает национальная сеть биоскрининга.

1. Инновационные технологии:
  - Использование уникальных отечественных суперкомпьютерных технологий.
  - Использование передовых достижений геномики и протеомики для создания тест-систем биоскрининга.
  - Оригинальные синтетические разработки.
  - Новейшие лаборатории доклинических испытаний на животных моделях.
2. Интегрированный высокотехнологичный комплекс:
  - Отечественные разработчики лекарств получают единый технологический комплекс для создания лекарств в любых терапевтических областях.
  - Мощный интеграционный импульс для институтов РАН, РАМН и других организаций, включая частные, работающих в сфере разработки лекарств.
3. Социальная и экономическая значимость:
  - Ощутимый стимул для развития отечественной фарминдустрии.
  - Развитие региональных научных центров.
  - Приоритетное создание инновационных лекарств для лечения социально значимых заболеваний.
  - Основа для создания в России крупной инновационной фармацевтической компании.

*Материалы доклада на II Международном конгрессе «ЕвразияБио-2010» (Москва, 12–15 апреля 2010 г.)*

**NATIONAL NETWORK OF BIOLOGICAL SCREENING (NNBS) IN RUSSIA:  
THE CONCEPT, THE NEW PARADIGMS,  
THE BIOLOGICAL COMPONENT**

V.N. DANILENKO

*Establishment of the Russian Academy of Sciences N.I. Vavilov Institute of General Genetics of RAS, Moscow*

The paper discusses the importance of creating a national network bioscreening in Russia in the context of implementing the concepts of Strategy «Pharma 2020». Detail the issue of protein kinase inhibitors rights as the basis for development new drugs to treat cancer, immune, neurodegenerative diseases.

*Keywords:* biopharmaceuticals, biological screening, a national network of Russia, protein kinase inhibitors.

## СОЗДАНИЕ ВАКЦИН В РОССИИ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

И.В. КРАСИЛЬНИКОВ\*

ФГУП «НПО Микроген» МЗ РФ, Москва

Проанализирована проблема разработки и производства отечественных вакцин. При этом акцент делается на существующие и потенциальные возможности ФГУП «НПО Микроген» МЗ РФ.

*Ключевые слова:* вакцины, разработка, производство, Россия.

Массовая иммунизация позволяет снижать уровень детской смертности, увеличивать среднюю продолжительность предстоящей жизни, повышать качество жизни, уменьшать риск инвалидизации и утраты трудоспособности. По соотношению «цена-эффективность» вакцинация, например, против гриппа и гепатита В, несоизмеримо выгоднее, чем соответствующее лечение: экономические потери в расчете на 1 человека при лечении гриппа составляют около 5 тыс. руб., при лечении гепатита В — примерно 45 тыс. руб., тогда как прививки обходятся от нескольких сотен до тысячи рублей.

К числу реальных достижений иммунизации следует отнести:

- глобальную ликвидацию оспы;
- ликвидацию полиомиелита на некоторых континентах;
- программу глобальной ликвидации кори;
- снижение заболеваемости дифтерией в 162 раза, коклюшем — в 51 раз, эпидемическим паротитом — в 15,7 раза, гепатитом В новорожденных — в 8,7 раза.

Известно 46 заболеваний, контролируемых вакцинами. К настоящему времени разработано более 100 различных вакцин (12 — в 90-е годы XX века). Тем не менее ежегодно от инфекционной патологии умирает свыше 12 млн. детей, из них 4 млн. — от инфекций, контролируемых вакцинами.

С помощью новых вакцин в ближайшие 5–15 лет можно будет предотвратить гибель 8 млн. детей в год. Сейчас на стадиях экспериментальной разработки и

клинических испытаний находятся вакцины против более 60 видов заболеваний.

Существует документ «Global Immunization Vision and Strategy (GIVS) for 2006–2015», принятый 58-й Ассамблеей ВОЗ 28.04.2005 г. В нем даются концепция и стратегические установки в сфере иммунизации до 2015 года, в которых обосновывается приоритетность иммунизации как главного элемента в достижении Millennium Development Goals.

Реализуются национальные программы по иммунизации (табл. 1).

Таблица 1

### Национальные программы по иммунизации

Российская Федерация	Развитые страны (США, Великобритания, Германия, Австрия и др.)
Корь	Корь
Эпидемический паротит	Эпидемический паротит
Краснуха	Краснуха
Полиомиелит	Полиомиелит
Дифтерия	Дифтерия
Столбняк	Столбняк
Коклюш	Коклюш
Гепатит В	Гепатит В
Грипп (с 2006 г.)	Грипп
Туберкулез	Пневмококковая инфекция <i>Haemophilus influenzae</i> типа b (Hib)

Результативность вакцинации можно продемонстрировать на итогах дополнительной иммунизации населения в 2006–2009 гг. в рамках приоритетного национального проекта в сфере здравоохранения «Здоровье» (табл. 2).

© 2010 г. Красильников И.В.

\* **Автор для переписки:**

Красильников Игорь Викторович.

д.б.н., профессор,

начальник управления науки и инновационного развития

ФГУП «НПО Микроген» МЗ РФ, Москва



Таблица 2  
Итоги дополнительной иммунизации  
в 2006–2009 гг.

Снижение заболеваемости в 2009 г.	Механизмы реализации <b>Было привито:</b>
Вирусный гепатит	2006–2007 гг.: не менее 25 млн. 2008 г. – 14 млн. человек
Краснуха – в 10 раз	2006–2007 гг.: не менее 11,6 млн.
Грипп и тяжелые осложнения от него	2006–2007 гг.: не менее 22 млн. человек 2008–2009 гг.: до 35 млн. человек
Предупреждение случаев вакциноассоциированного полиомиелита	2006–2007 гг.: по 150 тыс. детей, с 2008 г. – все дети в возрасте до 1 года

Перед российской биофармацевтической индустрией теперь стоят очередные задачи в области разработки и производства вакцин:

1. Разработать и обеспечить массовый выпуск:
  - вакцины против *Hib* (*Haemophilus influenzae* типа b);
  - вакцины против гепатита С;
  - вакцины против СПИДа;
  - вакцины против вируса папилломы человека.
2. Создать новые системы доставки антигенов и вакцины в различных формах (назальный распылитель – «спрей», эмульсии и т.д.).
3. Разработать новые комбинированные, генно-инженерные и терапевтические вакцины.

В связи с пандемией гриппа 2006 года ВОЗ приняла глобальный пандемический план действий по увеличению противогриппозных вакцин. В нем три направления: а) сезонное увеличение выпуска вакцин; б) повышение производства вакцин на краткосрочную перспективу – не позднее 6 мес. после запуска производства (иммунизация 2 млрд. человек) и средне- и долгосрочную перспективу (иммунизация 6,7 млрд. человек); в) разработка более эффективных вакцин против гриппа на базе новых технологий.

В России разработаны человеческие вакцины против птичьего гриппа H5N1. Были созданы три препандемические вакцины-кандидаты на основе линии NIBRG-14 (A/VietNam/1194/A/PR8) вируса птичьего гриппа H5N1, полученной из NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control), и линии A/17/Duck/Potsdam/86/92 (Len17/

H5), разработанной российскими специалистами. Это следующие вакцины:

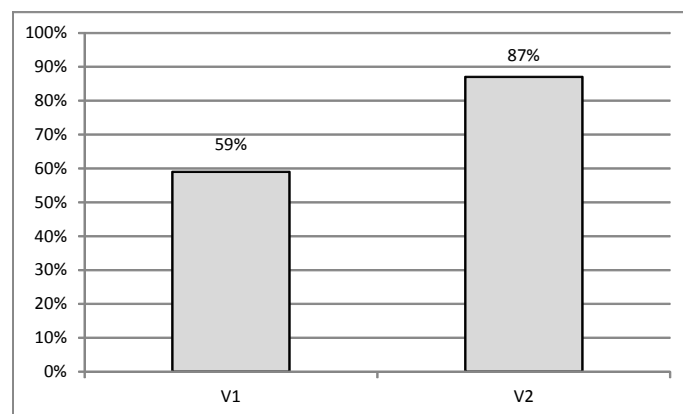
- инактивированная субъединица с адъювантом гидроокисью алюминия – Al(OH)<sub>3</sub>;
- инактивированная группа с адъювантом Al(OH)<sub>3</sub>;
- живая аттенуированная противогриппозная вакцина (live attenuated influenza vaccine – LAIV), стабилизированная M-2.

Протективные и иммуногенные свойства инактивированных вакцин против гриппа приведены в таблице 3.

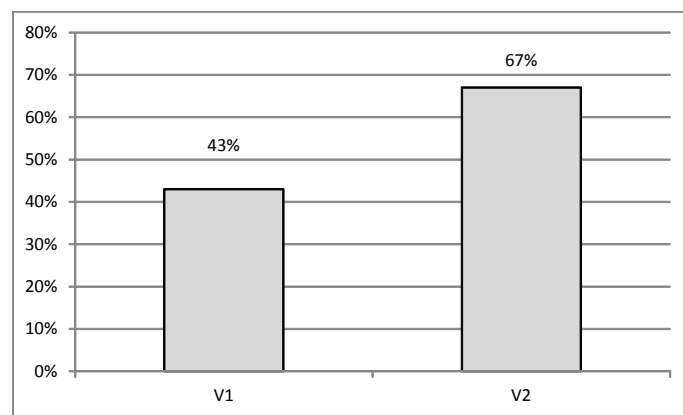
В РФ лицензированы: OmiFlu® – инактивированная субъединица противогриппозной вакцины, Ultragrivak® – живая противогриппозная вакцина.

ФГУП «НПО Микроген» готово организовать широкомасштабное производство человеческих вакцин против птичьего гриппа, которое полностью закроет потребность в ней всего населения страны.

Была осуществлена оценка иммуногенных и протективных свойств вакцин «ПАНДЕФЛЮ» и «ИНФЛЮВИР». На рисунке 1 показана иммуногенность вакцины «ПАНДЕФЛЮ» (18–60 лет).



А



Б

Рис. 1. Иммуногенность вакцины «ПАНДЕФЛЮ» (18–60 лет). А – уровень сероконверсии, %; Б – уровень серопротекции, %

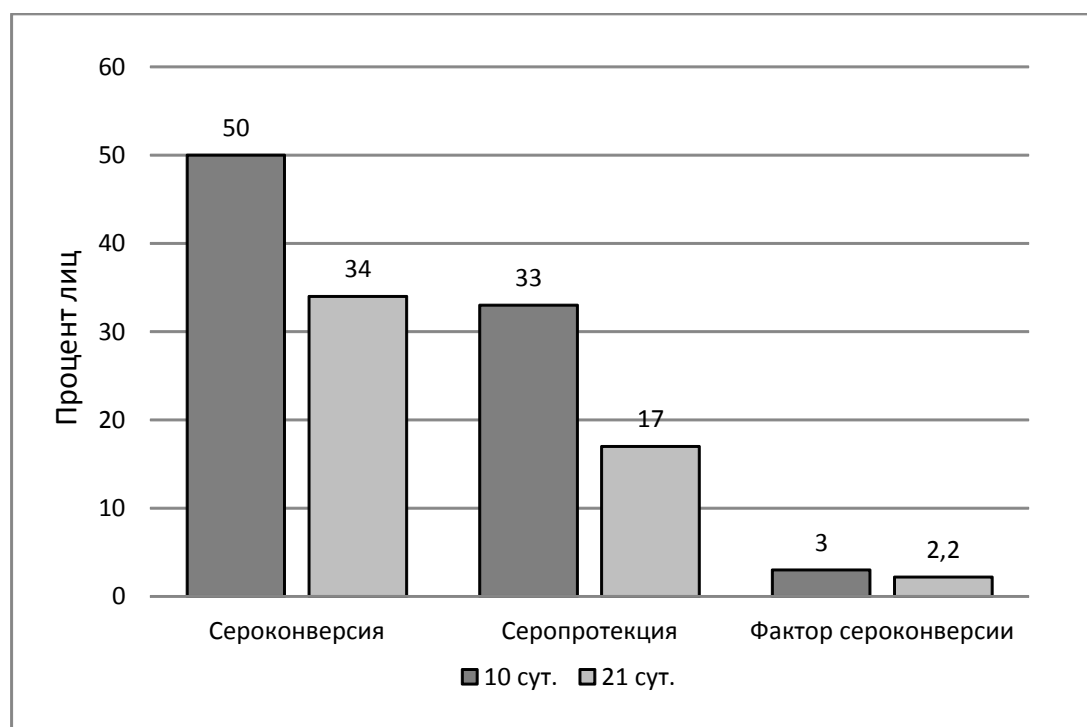


Рис. 2. Иммуногенность вакцины «ИНФЛЮВИР» (18–60 лет).

Таблица 3

## Протективные и иммуногенные свойства инактивированных вакцин против гриппа

№	Группы	Вирус	Титр АТ к Н5N1 в ИФА	Титр вируса в легких, TCID <sub>50</sub>	Кол-во мышей до/после к/з (1 день/17 день)	Защита (%)
1	Split	H5N1	<20	$5 \pm 2 \times 10^3$	19/11	57,9
2	Split+83,3 мкг РЯ	H5N1	800	$1 \pm 0,5 \times 10^4$	17/14	82,4
3	Split+8,3 мкг РЯ	H5N1	400	$1 \pm 0,5 \times 10^4$	19/13	68,4
4	Split+83,3 мкг Al(OH) <sub>3</sub>	H5N1	400	$5 \pm 2 \times 10^3$	15/9	60
5	Split+8,3 мкг Al(OH) <sub>3</sub>	H5N1	400	$1 \pm 0,5 \times 10^3$	19/12	63,2
6	Vir	H5N1	3000	0	13/13	100
7	PR8	H1N1	<20	$2 \pm 1 \times 10^5$	10/0	0
8	Контроль, PBS	—	<20	$2 \pm 1 \times 10^5$	20/0	0

На рисунке 2 изображена иммуногенность вакцины «ИНФЛЮВИР» (18–60 лет).

Исследуются характеристики вакцины против гриппа на основе вирусоподобных частиц (ВПЧ). ВПЧ гриппа выращиваются в растениях на основе только одного вирусного белка (гемагглютинин). ВПЧ напоминают вирус, но без его генетического материала, то есть они неинфекционны. Отмечается лучшее соотношение между безопасностью и эффективностью: эта вакцина вызывает гуморальный (антитела) и клеточный (Т-клетки) иммунный ответ и обеспечивает сильную защиту против вируса.

К числу других разработок ФГУП «НПО Микроген» относится создание бесклеточной вакцины против коклюша. Она вызывает меньше побочных эффектов, чем клеточная вакцина, потому что содержит очищенные антигенные компоненты *Bordetella pertussis*. По показателям иммуногенности у человека она обладает сходной способностью. Бесклеточная вакцина характеризуется:

- трехкратным уменьшением острой токсичности LD<sub>50</sub>;
- 100-кратным снижением анафилактичности;
- 120-кратным уменьшением пирогенности;

- 9-кратным снижением  $HSD_{50}$ ;
- 19-кратным снижением лейкоцитоза;
- преклиническая оценка вакцины-кандидата показывает ее безопасность, высокую гистамин-чувствительную активность и протективную способность.

В 2007–2008 годах была разработана клеточная вакцина против краснухи на основе технологии MRC-5 (Plotkin Stanley A.). В контрольных опытах были показаны биологическая стерильность, специфическая активность, физико-химические свойства и отсутствие микоплазмы. Вакцина-кандидат находится в фазе I клинических испытаний. Аналогов данной вакцины в Российской Федерации нет, технология ее получения сравнительно проста, соотношение «цена-эффективность» оптимально.

Наконец, создается новый класс вакцин, которые активируют врожденный иммунитет. Это — полибактериальная вакцина «Immunovac VP-4», состоящая из антигенных комплексов *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris*. Она разрабатывалась в тесном

сотрудничестве с Институтом вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН. Данная полибактериальная вакцина вызывала позитивный эффект при разных заболеваниях: бронхиальная астма — 71%, хронический бронхит — 95%, абсцесс легких — 75%, герпес — 90%. В иммунологическом плане применение Immunovac VP-4 приводит к таким результатам:

- 11-кратное снижение скорости наступления рецидива у больных детей и детей с хроническими заболеваниями в течение 7 месяцев;
- 3-кратное уменьшение времени протекания острого респираторного заболевания у больных детей и детей с хроническими заболеваниями в течение 12 месяцев;
- 6-кратное снижение тяжести аллергического заболевания (по показателям шкал);
- 50%-ное или более уменьшение размера опухоли при онкологической патологии.

*Материалы доклада на II Международного конгресса «ЕвразияБио-2010» (Москва, 12–15 апреля 2010 г.)*

## VACCINE DEVELOPMENT IN RUSSIA: CURRENT STATE AND PROSPECTS

I.V. KRASILNIKOV

*Federal State Unitary Enterprise «NPO «Microgen» Public Health Ministry RF, Moscow*

The problems of development and domestic production of vaccines with a focus on existing and potential «NPO «Microgen» Russian Ministry of Health were analysed.

*Keywords:* vaccine development, production, Russia.

## ГЕНЕТИКА АУТОИММУННЫХ СОСТОЯНИЙ И ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА – ПРОБЛЕМЫ И ВОЗМОЖНОСТИ

АЛЕКСАНДРА ЖЕРНАКОВА\*

Отдел медицинской генетики, Медицинский центр Лейденского университета, Лейден, Нидерланды

Рассматриваются генетические аспекты аутоиммунных заболеваний. Основное внимание в обзоре уделено роли HLA и pop-HLA генов в развитии целиакии, при этом использован как собственный материал, так и литература и Интернет-источники.

*Ключевые слова:* генетика, аутоиммунные заболевания, персонализированная медицина.

Заболевания иммунной системы поражают 10–20% населения. Среди них особое место занимают аутоиммунные заболевания (их более 80, частота в популяции 5–8%): ревматоидный артрит, диабет 1 типа, целиакия, системная красная волчанка, рассеянный склероз, болезнь Крона, неспецифический язвенный колит, псориаз, астма и др.

Известно, что мультифакториальные (комплексные) заболевания (МФЗ) обусловлены рядом причинных факторов: генотип, поведение (привычки), окружающая среда, случайные факторы. В последнее время достигнут значительный прогресс в изучении роли генетической составляющей в патогенезе. Было показано, что частота мультифакториальных заболеваний в семьях в 10–20 раз выше, чем в популяции. У монозиготных близнецов совпадение МФЗ достигает 80%.

Автором суммированы данные по генетике заболеваний иммунной системы. В отношении HLA генов определены локусы, сцепленные с некоторыми аутоиммунными заболеваниями (табл. 1).

Нами (Zhernakova A., Nat. Rev. Gen., 2009) выявлены сочетанные ассоциации иммунологически обусловленных заболеваний, сцепленных с определенными локусами HLA генов (рис. 1).

Появились также данные и по pop-HLA генам. Особенно ценные результаты были получены с помощью технологии GWAS (Genomewide Association Studies – полногеномные ассоциативные исследования).

© 2010 г. Александра Жернакова

\* Автор для переписки:

Alexandra Zhernakova,  
Department of Medical Genetics,  
Leiden University Medical Center,  
Albinusdreef 2, 2333 ZA Leiden, The Netherlands

Таблица 1

Локусы HLA генов, сцепленные с аутоиммунными заболеваниями

Заболевание	Локусы HLA генов	PAR (атрибутивно-популяционный риск)
Анкилозирующий спондилит	B27	0,43
Астма	TNF-A	0,03
Заболевание щитовидной железы	DR3/4	0,14
Целиакия	DQ2/8	0,43
Болезнь Крона	DR1/4	0,03
Рассеянный склероз	DR2	0,19
Псориаз	Cw0602	0,21
Ревматоидный артрит	DR4	0,5
Системная красная волчанка	DR3/2; C4	0,13
Диабет 1 типа	DR3/4	0,49
Язвенный колит	DR1/5	0,16

Среди лучше исследованных проблем следует отметить существенный прогресс в генетических исследованиях целиакии (ЦЛ) и ревматоидного артрита (РА). Так, например, в 1970–1980 гг. и в 2005–2008 гг. с помощью linkage analysis и исследования генов-кандидатов были идентифицированы первые локусы сцепления с заболеваниями: ЦЛ – HLA, CTLA4, РА – HLA, IRFS, STAT4, RPTN22; в 2007 – апреле 2009 гг. с помощью GWAS число локусов увеличилось: ЦЛ – TAGAP, IL2/IL21, LPP, SH2B3, IL12A, CCR3, REL, RGS1, IL18RAP, TNFAIP3, РА – CDK6, TNFRSF14,

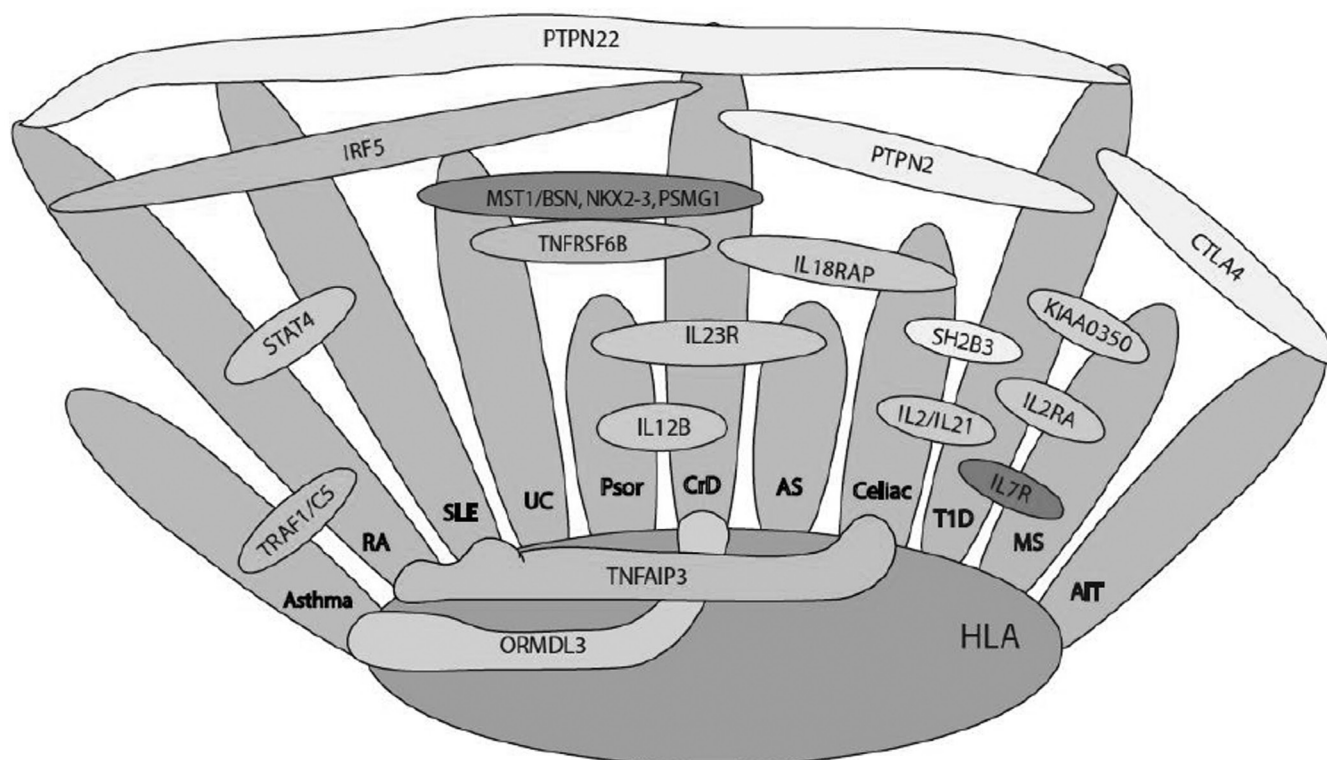


Рис. 1. Сочетанные ассоциации аутоиммунных заболеваний (Asthma, RA, SLE, UC, Psor, CrD, Celiac, T1D, MS, AIT), сцепленных с определенными локусами HLA генов.  
 Источник: Zhernakova, Nat. Rev. Gen., 2009

CCL21, KIF5A, PRKCQ, IL2RB, CD40, TRAF1/C5, TNFAIP3; в 2010 г. уже было установлено и для ЦЛ, и для РА по  $\approx 40$  локусов.

Продвинулось понимание генетической структуры аутоиммунных заболеваний, особенно в отношении рисков. Высокий риск по HLA обнаружен для целиакии, диабета 1 типа, ревматоидного артрита ССР+. Средний или низкий риск по HLA показан для болезни Крона, неспецифического язвенного колита, ревматоидного артрита ССР-.

В настоящем сообщении главное внимание будет уделено целиакии — заболеванию, характеризующемуся непереносимостью глютена (содержится во ржи, пшенице, ячмене). Генетическая предрасположенность к целиакии: 40% — по генам HLA, 60% — по non-HLA (гены 1, 2, 3, N). HLA ДНК-тестирование применяется для того, чтобы исключить диагноз «Целиакия».

К 2009 году было найдено 10 локусов целиакии, кроме HLA: IL2/IL21, LPP, REL, IL12A, RGS1, ATXN2/SH2B3, TAGAP, IL18RAP, TNFAIP3/OLIG3, ICOS/CTLA4, PTPN2, CCR1, CCR2, CCR5. Насколько эти non-HLA локусы могут помочь при исследовании данной патологии?

Romanos J. et al., Gastroenterology (2009) на основании изучения  $\approx 1500$  клинических случаев целиакии и 3500 лиц контрольной группы провели сравнение частоты HLA и non-HLA аллелей и оценили риски. Результаты представлены на рисунке 2.

Исходя из указанных базовых данных, Romanos J. et al. (2009) предложили модель, с помощью которой установили, что 5,2% клинических случаев целиакии против 1,9% контроля несут в себе риски 13 аллелей и более (расчет осуществлялся по отношению шансов — Odds ratio). Кроме того, на материале 436 случаев заболевания и 532 контрольных лиц этими же авторами (неопубликованные данные) было продемонстрировано, что по показателям HLA и non-HLA генов можно предсказать абсолютный риск развития целиакии. При этом вклад доли non-HLA аллелей незначительно улучшает прогноз в отношении риска. Предложена также модель определения риска заболевания для общей популяции. При  $n=1000$  высокий риск по HLA генам отмечается в 6,9%, а по совместно HLA и non-HLA генам — в 6,5%.

Учитывая актуальность проблемы целиакии, ее сравнительно высокие эпидемиологические показатели

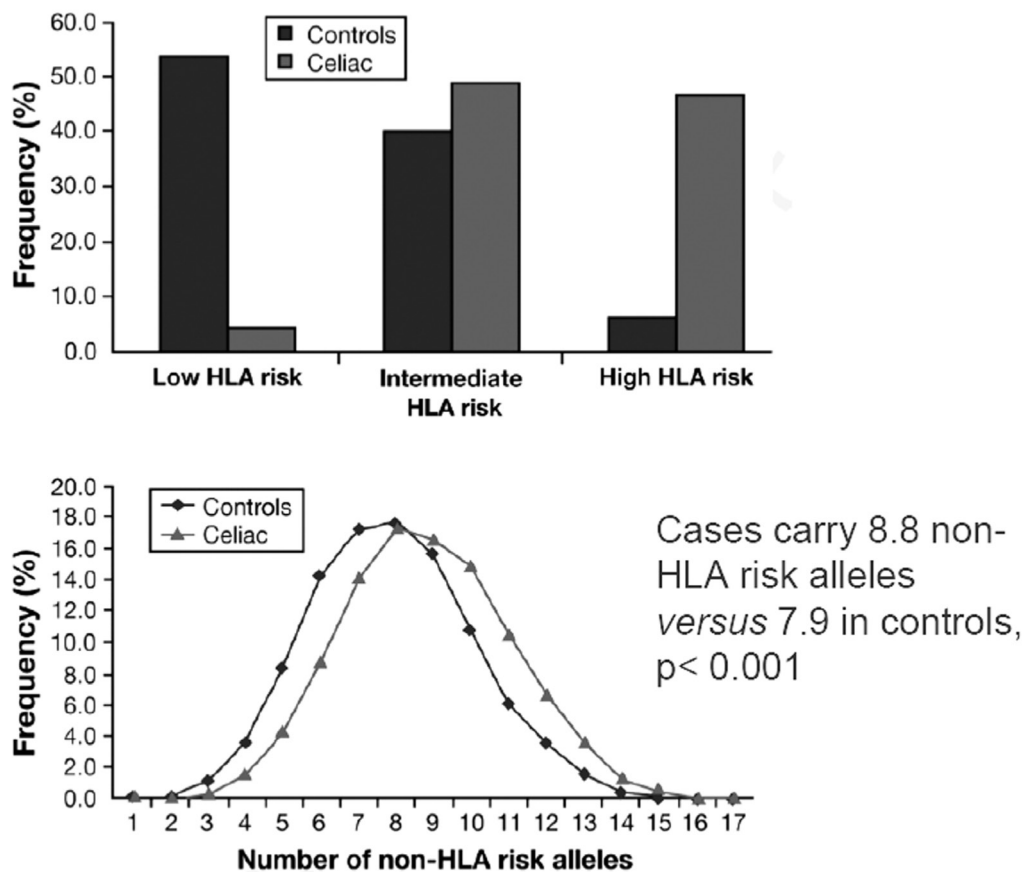


Рис. 2. Частота HLA и non-HLA аллелей при целиакии и в контроле.  
 Источник: Romanos J. et al., Gastroenterology (2009)

(например, в США — 1 из 100 лиц страдает этим заболеванием, особенно имеющие европейские корни; вообще принято считать, что 1% общей популяции подвержен целиакии), создан Европейский научно-исследовательский проект «PreventCD». Данный проект финансируется ЕС (EU-FP6-2005-FOOD4B-contract no. 036383) и реализуется в 10 странах: Швеция, Нидерланды, Италия, Германия, Испания, Норвегия, Польша, Венгрия, Хорватия, Израиль — в тесном взаимодействии с АОЕКС (Association of European Coeliac Societies — Ассоциация европейских обществ целиакии). Главной целью проекта является формирование профилактических программ индуцирования оральной толерантности к глютену у новорожденных.

Упомянутая предикативная модель будет в дальнейшем исследоваться и совершенствоваться. Кроме того, планируется ее апробация на других когортах:

- в рамках проекта «PreventCD» на когорте шведской популяции;
- в рамках проспективного исследования «Lifelines» (общее число участников — 165000, 30-летний

мониторинг, дизайн рассчитан на 3 поколения, <http://www.lifelines.nl/>);

- включение в модель других генов, ассоциированных с целиакией.

Возможны и более обычные варианты: реализация работ по методологии GWAS. Ставится также задача улучшения предсказательного значения моделей с помощью расширения числа генов, например, дополнительных 13 non-HLA локусов плюс 13 предполагаемых локусов.

Таким образом, в настоящее время в отношении генетических аспектов целиакии можно сделать следующие выводы:

- в клинической практике целесообразно проводить оценку генетического риска;
- включение non-HLA генов способствует лучшему предсказанию риска (требуется подтверждение этого вывода);
- генетический прогноз для многих аутоиммунных заболеваний пока слабо подкреплён доказательствами;

- есть надежда, что лучшее предсказание можно сделать, если известно больше генетических факторов. В контексте обсуждаемых вопросов существует несколько основных направлений:

- поиск редких вариантов и мутаций (секвенирование, тонкое картирование);
- функциональные исследования;
- поиск семейных вариантов;
- определение локусов, сцепленных с аутоиммунными заболеваниями;
- поиск новых локусов (мета-анализ GWAS);
- разработка новых препаратов;
- предсказательная и превентивная медицина.

Необходимо в заключение подчеркнуть преимущества генетического анализа над биологическими маркерами:

- у первого: забор материала проводится однократно; ДНК стабильна, одинакова во всех соматических клетках; дешево и быстро;
- у второго: необходим свежий материал, специфичный для пораженного органа; значительная вари-

ция в зависимости от возраста, здоровья и времени суток; трудоемко, относительно дорого.

*Автор благодарит за помощь в работе:*

- Jihane Romanos, Lude Franke, Agata Szperl, Cleo van Diemen, Gosia Trynka, Noortje Festen, Cisca Wijmenga (Медицинский центр Университета Гронингена, Нидерланды);
- Patrick Dubois, Graham Heap, Karen Hunt, David van Heel (Куин Мери университет Лондона, Великобритания);
- Сотрудников: Donatello Barosani, Bozena Cukrowska, Carlo Catassi, Roderick Houwen, Ed Lui, Ross McManus, Luisa Mearin, Chris Mulder, Susan Neuhausen, Marian Rewers, Paivi Saavalainen, Victorien Wolters.

*Материалы доклада на II Международном конгрессе «ЕвразияБио-2010» (Москва, 12–15 апреля 2010 г.)*

## GENETICS OF AUTOIMMUNITY AND PERSONALIZED MEDICINE – PROBLEMS AND POSSIBILITIES

ALEXANDRA ZHERNAKOVA

*Department of Medical Genetics, Leiden University Medical Center, Leiden, The Netherlands*

We consider the genetic aspects of autoimmune diseases. The main attention has been paid to the role of HLA and non-HLA genes in the development of celiac disease, in this case is used as own material, and literature and Internet sources.

*Keywords:* genetics, autoimmune diseases, personalized medicine.

## К 70-ЛЕТИЮ СО ДНЯ СМЕРТИ НИКОЛАЯ КОНСТАНТИНОВИЧА КОЛЬЦОВА

В.С. ВОРОБЬЕВ\*

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



В декабре 2010 года исполнилось 70 лет со дня смерти выдающегося отечественного биолога Николая Константиновича Кольцова. Журнал должен отреагировать на эту дату, связанную с человеком, имя которого вынесено на его обложку. Отдельные краткие заметки и комментарии по случаю тех или иных памятных событий в жизни данного ученого в журнале уже помещались [8, 9]. Теперь предстоит привести более расширенный материал. За период, прошедший после четвертьвекового замалчивания роли Н.К. Кольцова в биологии — 1940–1965, появилось много статей и книг, проинформировавших о

биографических фактах, его открытиях и восстановивших истинное место в науке этого экстраординарного исследователя [2, 24, 27, 30, 31]. Поэтому в настоящем сообщении будут проанализированы только главные моменты в его жизни и делах, особенно в плане вклада в развитие молекулярной биологии.

*Биография.* Николай Константинович Кольцов родился в Москве 3 (15) июля 1872 года. Отец Константин Степанович был бухгалтером меховой фирмы «Павел Сорокоумовский», мать — Варвара Ивановна (урожденная Быковская). Семья по матери находилась в родственных отношениях с промышленниками Алексеевыми и Четвериковыми. К.С. Станиславский (Алексеев) приходился троюродным братом матери Н.К. Кольцова. Сами Алексеевы были в близком родстве с Четвериковыми, из которых вышел известный биолог и генетик С.С. Четвериков (последний был четвероюродным братом Н.К. Кольцова). Есть сведения, что родственником является и чемпион мира по шахматам А.А. Алехин. Так что гены одаренности блуждали в генеалогическом древе Н.К. Кольцова и определенное их счастливое сочетание выпало и на его долю. Не исключено, что последующий интерес ученого к евгенике был стимулирован и его попытками разобраться в собственной родословной.

Все, чем он занимался, носило отблеск таланта. Гимназию он окончил в 1890 году с золотой медалью — сначала учился в подготовительном классе и до четвертого класса во 2-й Московской прогимназии, а затем — в 6-й мужской гимназии (рис. 1). Надо сказать, что в 6-й гимназии примерно в то же время учились другие в будущем знаменитые люди: писатель И.С. Шмелев, Священномученик Петр (Зверев) — Архиепископ Воронежский. Ныне в кольцовской гимназии располагается Библиотека им. К.Д. Ушинского. Московский университет Кольцов также окончил с дипломом 1-й степени и золотой медалью за работу «Пояс задних конечностей и задние конечности позвоночных». Это — тщательный уникальный труд объемом 700 страниц с большим

© 2010 г. Воробьев В.С.

\* **Автор для переписки:**

Воробьев Вадим Сергеевич

к.м.н., член Центрального Правления

Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова

119071 Москва, Ленинский пр-т, 33

E-mail: obr@biorosinfo.ru



количеством тонко выполненных рисунков (Николай Константинович был искусным рисовальщиком и всегда сопровождал лекции набросками, сделанными мелками).



Рис. 1. 6-я Московская мужская гимназия, которую окончил Н.К. Кольцов (ныне — Библиотека им. К.Д. Ушинского)

После сдачи магистерских экзаменов в 1896 году молодой выпускник отправился в первую зарубежную командировку (лаборатория Б. Флемминга в Киле, Неаполитанская биостанция). В это время он приступил к выполнению магистерской диссертации «Развитие головы миноги. К вопросу о метамерии головы позвоночных». Здесь, а также на других биостанциях в Роскове, Виллафранке, Гейдельберге во время последующих поездок он познакомился и установил дружеские отношения с рядом известных биологов: Э. Вильсон, Г. Дриш, О. Бючли, Р. Гольдшмидт, М. Гартман и др. Это сыграло большую роль в дальнейшем: Кольцов вел с ними активную переписку, осуществлял обмен информацией, посылал и получал оттиски работ и т.д. Они, в свою очередь, выполняли важную миссию распространения на Западе сведений о достижениях русского ученого, что способствовало укреплению его международного авторитета.

С 1901 по 1911 гг. Н.К. Кольцов состоял на должности приват-доцента кафедры сравнительной анатомии Московского университета. К этому периоду относятся его классические работы о форме клеток и цитоскелетных структурах, которые он выполнил в течение второй и последующих зарубежных поездок (Виллафранка, Неаполь, Гейдельберг, Росков, Берлин, Лейпциг и др.). Во время Первой русской революции 1905 г. он вошел

в кружок радикально настроенной университетской интеллигенции, в его кабинете печатались прокламации, он проявлял сочувствие к бастующим студентам и опубликовал брошюру «Памяти павших», чем вызвал неудовольствие руководителя кафедры М.А. Мензбира и сформировал о себе представление у властей как сторонник либерализма.

В 1911 году после известного коллективного протеста профессоров Московского университета против министра народного просвещения Кассо, ограничившего университетскую автономию, Н.К. Кольцов перешел на работу в частные учебные заведения: Высшие женские курсы профессора В.И. Герье и Московский народный университет им. Альфонса Леоновича Шанявского (золотопромышленника, мецената, генерал-майора). В них он трудился и ранее по совместительству: на Высших женских курсах — с 1903 г., в университете А.Л. Шанявского — с 1908 г. Уже тогда пошла молва о его Большом зоологическом практикуме. Именно здесь из студенческой среды ему удалось сформировать костяк своей будущей научной школы (Завадовский М.М., Серебровский А.С., Скадовский С.Н., Савич В.Г., Роскин Г.И., Живаго П.И., Натали В.Ф. и др.). Среди молодых людей, слушавших его лекции, был В.А. Энгельгардт, впоследствии крупный химик-академик. Одна из слушательниц Высших женских курсов — Мария Полиевктовна Садовникова — стала его женой.

Научная и педагогическая деятельность Н.К. Кольцова не осталась незамеченной, что выразилось в избрании в 1916 году 44-летнего ученого членом-корреспондентом Императорской Санкт-Петербургской академии наук. Надо отметить, что ему было сделано предложение о создании для него лаборатории в столице и присвоении звания действительного члена академии, но он отказался: не мог оставить своих многочисленных учеников, Это по сути было официальным признанием того факта, что как раз в Москве появилась авторитетная школа в биологии, равной которой Санкт-Петербург в то время не имел.

Деятельность Н.К. Кольцова проходила в период бурных политических событий: три русские революции, гражданская война, разруха, НЭП, пятилетки, сталинский террор. Достоинно удивления и восхищения, как много ему удалось сделать в такой обстановке. Если И.П. Павлов, В.М. Бехтерев, К.А. Тимирязев, В.И. Вернадский вступили в этот сложный период в расцвете славы и признания, то Н.К. Кольцову еще предстояло реализовать все задуманное. Во время 1-й Мировой войны, в 1916 году он добился решения об открытии Ин-

ститута экспериментальной биологии (ИЭБ) на средства Общества Московского научного института (благотворителями были Х.С. Леденцов, А.Ф. Маркс и др.), а в 1917 г. стал его директором и находился на этом посту до 1939 года. В распоряжение ИЭБ было предоставлено небольшое здание по адресу Сивцев вражек, 41. В штат нового института входили директор и три сотрудника, остальные трудились как волонтеры.

Революционные события привели к преобразованию в Москве в 1918 году Императорского университета в I Московский университет, а Высших женских курсов и университета Шанявского — соответственно в II и III Московские университеты. В августе 1919 года эти учреждения были объединены, а в 1930 г. при реформе высшей школы Московский университет был разделен. В результате на базе клиник бывшего Императорского университета был создан I медицинский институт, II университет стал II медвузом, а III — двумя педагогическими институтами. Данная информация важна потому, что Н.К. Кольцов занимал соответствующие должности в указанных учреждениях: в 1918–1924 гг. он был профессором II Московского университета, в 1918–1930 гг. — профессором I Московского университета и заведующим кафедрой экспериментальной биологии. В 1918 г. он был заведующим Генетическим отделом Московского отделения Комиссии по изучению естественных производительных сил (КЕПС) Академии наук. Параллельно в 1919–1930 гг. ученый являлся директором Центральной станции по генетике сельскохозяйственных животных Наркомзема РСФСР. В 1922–1925 гг. он исполнял обязанности профессора Медико-педологического института. В 1930–1933 гг. он руководил также двумя лабораториями во Всесоюзном институте животноводства ВАСХНИЛ.

Однако в послеоктябрьский период основным делом жизни Н.К. Кольцова было руководство Институтом экспериментальной биологии. В 1920 году ИЭБ был включен в систему Государственных институтов Наркомата здравоохранения (ГИНЗ). В 1925 г. благодаря поддержке Н.А. Семашко и М. Горького ИЭБ получил новое помещение — дореволюционный особняк по адресу Воронцово поле, 6 (рис. 2). Это хорошо сохранившееся до наших дней своеобразное строение в стиле модерн было возведено в 1911 году известным московским архитектором Иваном Тимофеевичем Бардугиным (1868–1928) для предпринимательницы Г.В. Бардыгиной, родственницы городского главы Егорьевска купца Н.Д. Бардыгина, по заказам которого архитектор строил и в этом городе.



Рис. 2. Здание Института экспериментальной биологии, Воронцово поле, 6 (ныне — посольство Индии)

ИЭБ находился в нем до 1952 года, когда оно было передано посольству Индии (с 1938 г. под новым наименованием — Институт цитологии, гистологии и эмбриологии АН СССР).

Н.К. Кольцов жил в институте, на втором этаже находился его рабочий кабинет. Известно также, что у Кольцова с супругой была квартира в Хамовниках, которую они занимали с 1915 по 1940 гг. по адресу: 2-й Обыденский пер., 15, кв. 69 [32].

Все вышеизложенное — это общая канва жизни и творчества Н.К. Кольцова. Фабула дореволюционного периода частично кратко изложена, включая некоторые проблемы, связанные с либеральными взглядами ученого. Послереволюционный период деятельности Кольцова полон элементами драматизма, в которых личное переплетается с основной профессиональной линией и которые требуют обстоятельного изложения. Во многом это объясняется спецификой революционных и послереволюционных событий, водоворот которых вовлекает, прежде всего, активные, передовые слои общества, а тем более — выдающиеся умы.

Поэтому в рамках мемориальной статьи целесообразно упомянуть лишь часть ключевых моментов; дело «Тактического центра», история с евгеникой, отставка и смерть.

В 1920 году ЧК сфабриковала дело «Тактического центра», которое было призвано открыть цепь судилищ по образцу трибуналов французской революции, направленных против оппозиции. По процессу проходили видные представители московской интеллигенции: С.Е. Трубецкой, С.П. Мельгунов, Н.Н. Щепкин, Н.К. Кольцов и др. Главным обвинителем выступал председатель Революционного (Верховного) трибунала Н.В. Крыленко. Зажигательную речь в Политехническом музее — месте проведения суда — произнес Лев Троцкий. 20 обвиняемых, в том числе Кольцов, были приговорены к расстрелу. Однако по ходатайству М. Горького, А.В. Луначарского и известного революционера П.А. Кропоткина приговор был отменен, причем лично В.И. Лениным. В пользу пропагандистского характера организованного процесса свидетельствует тот факт, что в последующих кампаниях против ученого этот «контрреволюционный» эпизод ему не припоминали. Зато с лихвой ему досталось за евгенику — направление, основанное Н.К. Кольцовым в России в неспокойное лихолетье после революции.

В начале 20-х годов многогранные научные интересы Кольцова расширились — к числу большого спектра проблем добавилась и евгеника, то есть наука об облагораживании человеческого рода. Для развития данного направления в 1920 году было создано Русское евгеническое общество с руководящим органом — бюро в составе Н.К. Кольцова, В.В. Бунака, Т.И. Юдина, Н.В. Богоявленского, А.С. Серебровского. С 1922 года начал издаваться «Русский евгенический журнал». Концепции евгеники увлекали многих в период революционных преобразований — грандиозная идея рукотворного созидания нового человека будоражила умы (отсюда увлечения омоложением, пересадками органов, межвидовым скрещиванием и т.д. — Булгаков хорошо отразил эту обстановку в «Собачем сердце»). В работе общества принимали участие государственные деятели Н.А. Семашко, А.В. Луначарский, известные медики Г.И. Россолимо, Д.Д. Плетнев, С.Н. Давиденков и др. М. Горький также поддерживал это начинание, ответив на анкету, легшую потом в основу статьи Н.К. Кольцова «Родословные наших выдвигенцев» (1926). Но к концу 20-х годов евгенические идеи потеряли свою привлекательность, а в некоторых странах нашли практическое развитие в виде мероприятий расовой гигиены (регулирование браков, принудительная стерилизация и др.). В результате Н.К. Кольцов самостоятельно принял решение о закрытии общества и журнала. Тем не менее следы евгенической деятельности ученого (выступления, статьи) были активно использованы впоследствии для

его дискредитации, особенно с помощью передергивания цитат и нелепых обвинений в фашизме и т.д.

В биографии Н.К. Кольцова есть поистине трагические страницы. Научные дискуссии 30-х годов с ламаркистами были всего лишь преамбулой к печальному финалу. Сложная политическая ситуация в стране, поддержанное государством усиление позиций Т.Д. Лысенко и его сторонников, отсутствие авторитетных покровителей (в 1936 году умер его постоянный защитник М. Горький) — все это привело в конце концов к отстранению Н.К. Кольцова от руководства своим детищем — Институтом экспериментальной биологии. Это произошло в 1939 году. В ноябре 1940 г. Н.К. Кольцов прибыл на научную конференцию в Ленинград, работал в библиотеке, готовился к докладу «Химия и морфология», с которым он собирался выступить на заседании по случаю 145-й годовщины Московского общества испытателей природы (МОИП). Однако этому не суждено было сбыться. 2 декабря 1940 года, находясь в гостинице «Европейская», Николай Константинович скончался от инфаркта миокарда.



Рис. 3. Могила Н.К. Кольцова и его жены на Введенском кладбище

Его супруга Мария Полиевктовна, не выдержав испытаний, выпавших на их семью, приняла яд, оставив предсмертную записку следующего содержания: «Сейчас кончилась большая, красивая, цельная жизнь. Во время

болезни как-то ночью он мне ясно сказал: «Как я желал, чтобы все проснулись, чтобы все проснулись». Еще в день припадка он много работал в библиотеке и был счастлив. Мы говорили с ним, что мы «harру, harру, harру» [24]. Два гроба с покойными, как легендарных Тахира и Зухру, привезли в Москву и выставили для прощания в институте на Воронцовом поле. Тела были кремированы и урны с прахом были захоронены на Лефортовском кладбище (его еще называли Немецким, ныне — Введенским). Позднее на их могиле был установлен скромный памятник с горельефом (рис. 3), изготовленным Н.П. Беляевой, женой Н.К. Беляева (1899–1938) — генетика, кольцовского ученика, репрессированного и расстрелянного во время широкомасштабного террора конца 30-х годов. Символична надпись на памятнике: «Скончались 2 декабря 1940 г.». Образ Кольцова запечатлен в 1929 г. в бронзе и скульптором Верой Мухиной — бюст хранится в Третьяковской галерее, а авторская копия — в ИБР РАН. Николай Константинович дружил с В. Мухиной и ее семьей (ее муж А.А. Замков работал у него, был создателем препарата «Гравидан» из очищенной мочи беременных, основал под это направление лабораторию, а затем даже Институт урогравиданотерапии, который в конце концов был закрыт). Были опубликованы два некролога учеников [1, 41].

*Открытие Н.К. Кольцова.* Речь пойдет о его личном вкладе, о его предсказаниях, об исследованиях, сделанных учениками под его руководством.

Из ранних работ ученого следует отметить обстоятельное изучение развития головы миноги. Они выдвинули его в число первоклассных зоологов.

Затем от традиционной сравнительной анатомии Н.К. Кольцов перешел к систематическим исследованиям клетки с акцентом на ее формообразующие элементы. Этот цикл открывает первая работа «О формоопределяющих эластических образованиях в клетке» (опубликована в 1903 г. на немецком языке) [40]. Объектом служили спермии десятиногого рачка *Inachus scorpio*. Уже в этой статье им был сформулирован принцип: чем сильнее развиты внутриклеточные эластические структуры, тем больше клетки отходят от шарообразной формы (впоследствии его назвали «принципом Кольцова»). Данные исследования получили продолжение в капитальном труде «Исследования о форме клеток» в трех частях, напечатанных на немецком языке в 1906, 1908, 1911 гг. [37–39] (на русском языке — в [14, 15, 17]). В нем был расширен набор объектов и методов, включая морфологические, физиологические, биофизические. Внутриклеточные опорные образования ученый связывал

с мицеллярными структурами. Фактически за полвека до реального открытия было обнаружено и обосновано существование цитоскелета (причем, был предложен термин «твердый клеточный скелет»). С введением электронной микроскопии в 50–60-е гг. было показано, что цитоскелет образуют микротрубочки, микрофиламенты и промежуточные филаменты, представляющие собой специфические белки, обуславливающие форму и подвижность клетки (особенно демонстративно это на примере ресничек, хвоста сперматозоидов, аксонов и т.д.). Автор настоящей статьи упоминал имя Н.К. Кольцова в своей обзорной статье 1980 г. о микротрубочках [7].

Но самым блестящим озарением ученого стало его предсказание в 1927 году наличия крупных полимерных («наследственных») молекул, обладающих способностью к самовоспроизведению. Он полагал, что хромосома представляет собой гигантскую молекулу, в состав которой входят две нити — генономы, каждая из которых состоит из отдельных генов (как радикалов этой молекулы) (рис. 4).

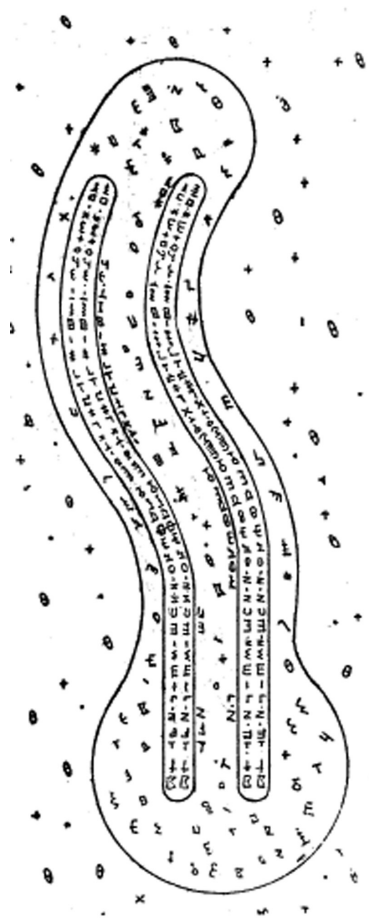


Рис. 4. Схема генономы (по Кольцову)

Новые генономы получают только на предсуществующей матрице. То есть им был провозглашен

матричный принцип передачи наследственной информации. И хотя свою гигантскую самоудваивающуюся молекулу Кольцов считал белком (а не ДНК, как было установлено позднее), сам этот факт имеет непреходящее значение, поскольку он привел к преемственной серии работ по данному вопросу своего ученика Н.В. Тимофеева-Ресовского с коллегами — М. Дельбрюком, К. Циммером (1935), к комментариям Э. Шредингера в его знаменитой книге «Что такое жизнь с точки зрения физики» (1944), наконец, к открытию двойной спирали ДНК Дж. Уотсоном и Ф. Криком (1953). О своей идее самоудваивания наследственной молекулы Н.К. Кольцов доложил на III Всесоюзном съезде зоологов, гистологов и эмбриологов в Ленинграде в декабре 1927 года. Его приоритет закреплен публикациями 1928 года на русском языке [18, 19] и на немецком языке [36] и признается как в нашей стране, так и за рубежом.

В 1935 году Кольцов предложил схему многонитчатого строения политенных хромосом в ядрах клеток слюнных желез двукрылых, что получило признание специалистов [25].

Н.К. Кольцовым в течение жизни было высказано множество оригинальных мыслей. Еще задолго до Меллера он поставил вопрос о мутациях, вызываемых рентгеновским излучением (опыты Д. Ромашова и др.). Он стимулировал своих сотрудников (Сахаров В.В. и др.) к изучению механизмов химического мутагенеза. Он дал тему своим ученикам об изменении пола на примере тутового шелкопряда (они впоследствии сожалели, что не включили своего учителя в соавторы). Им высказана масса суждений об эволюционном процессе, изменчивости, возможности самозарождения жизни (вопреки гипотезе Аррениуса), которые значительно опережали свое время. При этом никогда не было ни тени сомнений и лидерства: на первый план всегда выходила взвешенная благородная позиция общего поиска истины.

Наконец, не все еще исторически ясно с евгеническим направлением, разработкой которого Кольцов занимался 10 лет. Он сам основал и сам закрыл его. Хотя в спорах потеряли главную линию ученого — исследование генетики человека и генетики поведения. Тем не менее была дана точка роста в виде Медико-генетического института — сначала медико-биологического (Левит С.Г.), который был разгромлен в 30-е годы, но в новом качестве воссоздан в системе Академии медицинских наук СССР (ныне — РАМН) и продолжает функционировать и сейчас как Медико-генетический научный центр РАМН. Всем известен тот существенный про-

гресс, который достигнут в геномных и постгеномных технологиях применительно к задачам медицины. Так что имеются достаточные причины для утверждения, что и здесь Кольцов сказал свое слово, в том числе и в плане предвидения.

Важным моментом являлось умение Кольцова привлечь способных учеников и дать им возможность к самореализации. Это достигалось за счет высокой культуры общения, создания атмосферы научного «братства», в которой нивелировались вопросы субординации и приказных действий, а главное — за счет личного примера, где Кольцов был безукоризнен и неотразим: так быть преданным науке, так сосредоточенно и целеустремленно трудиться было уделом немногих. В итоге удалось получить ценные результаты по широкому фронту биологии. Значимые достижения кольцовской школы имеются в следующих областях:

- химический мутагенез (Сахаров В.В., Рапопорт И.А.);
- генетика популяций (Четвериков С.С., Тимофеев-Ресовский Н.В.);
- сложная структура гена (Серебровский А.С., Дубинин Н.П.);
- регуляция пола (Завадовский М.М., Астауров Б.Л.);
- генетика человека (Левит С.Г., Эфроимсон В.П.);
- гидробиология (Скадовский С.Н., Винберг Г.Г.).

*Научно-организационная и издательская деятельность.* Подлинное значение Н.К. Кольцова в развитии биологической науки во многом определяется его активной организаторской деятельностью. Благодаря этому он смог создать уникальную научную школу, фактически представленную на всех магистральных направлениях биологии.

Главным его достижением в этом плане был Институт экспериментальной биологии, которым он руководил 22 года. Нужно подчеркнуть еще раз прозорливость Кольцова, выбравшего оптимальную форму и стратегическую линию деятельности института. У него был выбор, по какому пути пойти: или монотематического учреждения по типу лабораторий Т. Моргана или И.П. Павлова, или по типу многофункционального Пастеровского института. Ученый выбрал последний вариант и, как показала история, не ошибся, благодаря чему ИЭБ выдержал нелегкие испытания политических катаклизмов, общественного непризнания, реорганизации и сохранил свое лицо до сих пор в виде фактического правопреемника — Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН.

Кольцовский институт уступал по размаху Всесоюзному институту растениеводства (ВИР) Н.И. Вавилова, ВИЭМу или Колтушской «столице условных рефлексов» И.П. Павлова. Тем не менее в малом объеме Кольцов сумел создать жизнеспособный коллектив с двухуровневой организацией: ученики первого поколения — ученики второго поколения.

В 1920-е годы ИЭБ имел следующие отделения: физико-химической биологии, генетическое, цитологическое, механики развития, культуры тканей, евгеническое, зоопсихологическое, гидробиологическое, экспериментальной хирургии. При институте были биостанции, обширная библиотека директора, предоставленная в полное распоряжение сотрудников. Выписывались журналы, которые регулярно просматривались Кольцовым с рекомендательными пометками тому или иному работнику. Директор всячески способствовал, чтобы представители двух основных когорт института: генетики и «ионщики» (сотрудники, изучавшие влияние ионов на живые объекты) общались друг с другом и умели говорить на одном языке.

У Н.К. Кольцова был прирожденный талант редактора и писателя. Он до трех лет не говорил, но затем заговорил стихами и сам в 4 года с помощью брата выучился читать. С 1912 по 1930 гг. Кольцов был главным редактором естественнонаучного журнала «Природа» (журнал выходит до сих пор). С 1922 года он выпускал «Успехи экспериментальной биологии», с 1925 г. переименованный в «Журнал экспериментальной биологии. Серия А и Б», а с 1932 г. преобразованный в «Биологический журнал». Премником этих изданий стал «Журнал общей биологии», издававшийся АН СССР и существующий в настоящее время. О выпуске «Русского евгенического журнала» уже говорилось выше.

Под редакцией Кольцова в 20-е годы вышел ряд переводных изданий. Сам он написал несколько научно-популярных брошюр, например, «Причины современного исхудания» (1922) (рис. 5). Все это свидетельствует о его энциклопедизме и высоком творческом потенциале.

Н.К. Кольцовым была основана в качестве приложения к журналу «Природа» серия «Классики естествознания». В ней вышли книги: И.И. Мечников «Лекции о сравнительной патологии воспаления», Г. Мендель «Опыты над растительными гибридами», труды У. Гарвея, К. Бэра. Он был руководителем биологического раздела серий «Современные проблемы естествознания» и «Классики науки». Здесь вышли книги

Т. Моргана «Структурные основы наследственности», Р. Гольдшмидта «Механизм и физиология определения пола» и др.

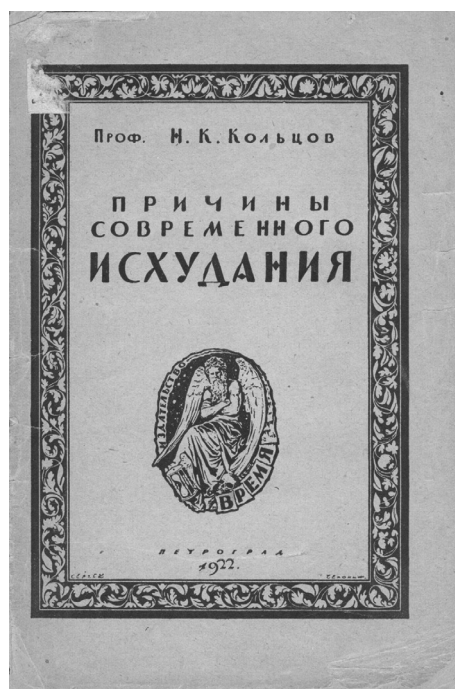


Рис. 5. Обложка книги Н.К. Кольцова «Причины современного исхудания» (1922)

Кольцов принимал участие в выпуске журналов и альманахов «Русское слово», «Наши достижения» и др. Он являлся соредактором биологического отдела 1-го издания БСЭ, редактором биологического отдела 1-го издания БМЭ. Нередко печатал статьи в центральных газетах.

Таким образом, по крайней мере, по критерию своей научной и издательской активности, Н.К. Кольцов де факто в 20-е годы стал биологом № 1 в нашей стране.

Травля «пророка в своем отечестве». Одним из первых изданий о Н.К. Кольцове после официального замалчивания была книга В.М. Польшина «Пророк в своем отечестве» (1969) [24]. Это сравнение очень точно передавало суть трагедии, незаслуженно разыгравшейся с великим ученым.

В конце 20-х годов синхронно с дискуссиями о евгенике ИЭБ подвергся значительной реорганизации, грозившей фактическим разрушением института. Был ликвидирован евгенический отдел и его темы и часть штата были переданы в Медико-биологический (позднее — Медико-генетический) институт. Темы по эндокринологии и патофизиологии отошли институтам эндокринологии и урогравиданотерапии. Гидробиологическое отделение и Звенигородская станция перешли в ведение МГУ,

Центральная (Аниковская) генетическая станция в 1929 г. вошла в состав нового Всесоюзного института животноводства. В 1930 г. Н.К. Кольцова лишили кафедры в МГУ. Интересно: что бы ни закрывали кольцовское, оно или вскоре, или с отсрочкой возрождалось. Так, на месте закрытой в 1930 г. кафедры в МГУ возникли сразу пять новых кафедр, четыре из которых заняли ученики Н.К. Кольцова (Серебровский А.С., Скадовский С.Н., Заводовский М.М., Роскин Г.И.). Звенигородская станция живет и процветает по сей день в структуре МГУ. Остатки ИЭБ через 25 лет после смерти основателя были реорганизованы в Институт биологии развития АН СССР.

К этому времени два могучих покровителя — наркомы Н.А. Семашко и А.В. Луначарский — уже не занимали свои посты. Оставался один — М. Горький, через которого Н.К. Кольцов в 1932 году передал письмо Сталину. Вмешательство вождя спасло институт от полного разорения, хотя, как оказалось, временно.

Начиная с 30-х годов биологи страны были вовлечены в постоянные споры между сторонниками Т.Д. Лысенко и генетиками. Надо сказать, что Н.К. Кольцов не уклонялся от диспутов и выступал с резкой критикой псевдоученых. Особенно острая дискуссия состоялась в декабре 1936 года на IV сессии ВАСХНИЛ. Ее целью была реализация направленной сверху директивы о правоте лысенковцев. Тем не менее благодаря активным выступлениям генетиков удалось сорвать это организованное мероприятие. Н.К. Кольцов как настоящий ученый и патриот, видя конформистскую позицию президента ВАСХНИЛ А.И. Мурадова, направил ему письмо (Кольцов с 1935 г. стал действительным членом ВАСХНИЛ). В нем он, в частности, указывал: «Заменить генетику дарвинизмом нельзя, как нельзя дифференциальное исчисление заменить алгеброй (конечно, и обратно). Полвека в науке — большой период, и нельзя Советскому Союзу хотя бы в одной области отстать на 50 лет ... Невежество в ближайших выпусках агрономов обойдется стране в миллионы тонн хлеба». Письмо не возымело действия, и президиум ВАСХНИЛ признал его неверно оценивающим итоги дискуссии. С исторической точки зрения и в данном случае проявляется пророческий дар Кольцова. «Великие экспериментаторы», о которых говорил И.П. Павлов на правительственном приеме в 1936 году, довели отечественную биологию до состояния стагнации, несколько выправленного активной 14-летней деятельностью Ю.А. Овчинникова на посту вице-президента АН СССР, подкрепленной авторитетом В.А. Энгельгардта и других видных ученых. Наступивший посткоммунистический период опять от-

бросил биологию назад, так что пророчество Кольцова сбылось и в этом случае: срок со знаком «-» в 50 лет, как дамоклов меч, висит над нашей биологией. Политический и социальный волюнтаризм обошелся стране значительным отставанием в несколько десятков лет, как он и предупреждал.

События 30-х годов неуклонно вели к развязке. В связи с выборами в АН СССР в 1939 году была развернута пропагандистская кампания по компрометированию Кольцова, в том числе была опубликована обличительная статья в газете «Правда» с тенденциозно подобранными цитатами из его работ по евгенике 20-х годов, на основании которых его именовали «фашистом». Н.К. Кольцов обратился второй раз с письмом к Сталину, в котором в спокойном тоне разъяснил ему надуманность и необъективность обвинений в свой адрес. Ответа не последовало, но жизнь ему, скорее всего, была сохранена благодаря мужественному акту ученого. Ведь страшный каток «обострения классово-борьбы» сметал на своем пути все оригинальное, самобытное, а уж тем более — выдающихся личностей, отстаивавших право на собственное мнение. Среди лиц, боровшихся за генетику, многие погибли: умер в тюрьме Н.И. Вавилов, были расстреляны С.Г. Левит, Н.К. Беляев, Г.Д. Карпеченко (приговорен к смертной казни одновременно с Н.И. Вавиловым в июле 1941 г.) и др. В этот мартиролог, в сущности, можно включить и Н.К. Кольцова, умершего после гонений от сердечного приступа через год после снятия с поста директора ИЭБ. К чести ученого нужно упомянуть, что «покаяния» от него так и не добились ни отдельные сотрудники института, ни специальные комиссии АН СССР. Известны его слова: «Я не отрекаюсь от того, что говорил и писал, и не отрекусь, и никакими угрозами вы меня не запугаете. Вы можете лишить меня звания академика, но я не боюсь, я не из робких». Особенно подорвали здоровье Н.К. Кольцова вызовы в НКВД на ночные допросы в качестве свидетеля по делу арестованного в августе 1940 года Н.И. Вавилова. Кольцов, как всегда, был тверд, спокоен, откровенен и, вне всякого сомнения, пытался облегчить участь Николая Ивановича и уж тем более не оговорил его, что нередко случалось со многими в экстремальных ситуациях.

*Черты личности.* Существенным условием при биографическом анализе является определение особенностей личности. Сравнительно небольшая иконография ученого (наиболее полный комплект фотографий разных периодов жизни содержится в книге В.М. Польнина [24]) дает некоторые представления о его характере. Это — спокойный, уравновешенный человек, выше среднего роста, с крупной породистой головой. При-

влекают внимание на фотографиях начиная с около 40-летнего возраста его пышные усы, как у Ницше (кстати, и как у Горького). Примечательно, что нет ни одного снимка, где бы он улыбался или смеялся, что свидетельствует о его сосредоточенности. Такой тип ученый нередок (Рамон-и-Кахаль С., Флеминг А., Баев А.А. и др.). Прекрасную характеристику дал ему в 1956 году Рихард Гольдшмидт — коллега по работе на биостанциях в начале XX века: «Там был блестящий Николай Кольцов, возможно, лучший зоолог нашего поколения, доброжелательный, немисливо образованный, ясно мыслящий ученый, обожаемый всеми, кто его знал (цит. по: [2]). Ученики и близкие к нему люди также представляют самые восторженные характеристики. Так, И.А. Рапопорт был очарован первым впечатлением от него: «...Он внешне был импозантен и говорил красиво и мудро» [30]. Несколько сдержанную оценку приводит его научный «внук» — член-корреспондент АН СССР Г.Г. Винберг, гидробиолог, воспитанник кольцовского ученика С.Н. Скадовского (об этом сообщил Д. Гранин в своей книге «Зубр» [10]): «Внешность? Эффектная. Толстовка, большой бант, элегантность ... Белые усы, **всегда хмуро-хорошее настроение**» [выделено В.С.]. Такое неожиданно парадоксальное определение с некоторым черным юмором, тем не менее лишней раз подтверждает ведущие черты Кольцова: постоянное думание, серьезность, огромную внутреннюю концентрацию. Так что «хмурость» — это специфическая особенность темперамента ученого, которая, возможно, помогла ему вынести все перипетии театра абсурда 30-х годов в отношении биологии и генетики, устроенного такими умелыми режиссерами, как Т.Д. Лысенко и И.И. Презент, при поддержке первых лиц государства.

Конечно, указанные внешние черты не являются прямым «коррелятом гениальности», но вместе с его научной и общественной результативностью, разносторонностью интересов, интеллигентностью, коммуникативностью способствовали тому, что у Кольцова было много друзей, включая и высоких покровителей, Среди них: М. Горький, с которым он подружился во время своих командировок на Неаполитанскую биостанцию и который не раз выручал Кольцова из тяжелых ситуаций; Н.А. Семашко, нарком здравоохранения, член Президиума ВЦИК, председатель Дома ученых АН СССР, до революции — казначей большевистской партии, А.В. Луначарский, нарком просвещения — оба влиятельные функционеры советского государства.

Н.К.Кольцов контактировал с крупнейшими отечественными учеными того времени — В.И. Вернад-

ским, Н.Д. Зелинским, Л.А. Орбели, Н.И. Вавиловым и др. В Институт экспериментальной биологии к нему приезжали многие мировые знаменитости: У. Бэтсон, К. Бриджес, Р. Гольдшмидт, Дж.Б.С. Холдейн, О. Фохт. С. Дарлингтон и др. Бывал и Г. Меллер, который в 1922 г. привез в ИЭБ несколько линий дрозофилы из лаборатории Т. Моргана, чем положил начало этому генетическому направлению в России. Излишне говорить о многочисленных заочных связях Кольцова с другими ведущими биологами мира. Естественно, что он был дружен с московской творческой интеллигенцией: В.И. Качалов, Н.А. Обухова навещали его дома.

Наконец, следует упомянуть о такой интересной странице в жизни Н.К. Кольцова, как его общение с И.П. Павловым по вопросу о наследовании приобретенных признаков. Николай Константинович в начале 20-х годов XX века еще не был Кольцовым в своей полной силе и славе, однако, узнав о результатах экспериментов павловского сотрудника Н.П. Студенцова, в которых как бы «подтверждались» ламаркистские идеи закрепления приобретенного признака (реакции на звонок) в следующих поколениях мышей, не побоялся отправиться в Петроград к прославленному физиологу и постарался тактично убедить его в заблуждениях. В конце концов, это помогло И.П. Павлову избавиться от неверных толкований и открыть в своих лабораториях новое направление, связанное с генетикой: в Колтушах до сих пор стоит построенный им корпус, на фронтоне которого написано: «Экспериментальная генетика высшей нервной деятельности».

Есть еще интересная деталь, которая характеризует личность Кольцова и раскрывает в полной мере его суть. Это то, что он является ученым-экспериментатором до мозга костей. Многие помнят возглас Архимеда, когда над его головой был занесен меч врага-захватчика: «Убей меня, но не трогай моих чертежей». Так и Кольцов. Находясь в положении приговоренного к расстрелу «псевдозаговорщика» по делу так называемого «Тактического центра», он ставил на себе опыты с целью выяснить, как состояние стресса (по его терминологии — «неустойчивого равновесия») влияет на массу тела, причем делал это скрупулезно и точно, без всяких эмоций. Результаты данных наблюдений он напечатал в специальной статье в журнале «Известия Института экспериментальной биологии» (1921) [16]. Эта стойкость духа достойна восхищения. Она же спасала его не раз на протяжении двух последних десятилетий жизни.

*Звания, увековечение памяти, оценка его деятельности.* В биографической статье необходимо сооб-



щить о званиях и об увековечении памяти Н.К. Кольцова. Их перечень невелик. Еще до 1917 года он отказался от защиты готовой диссертации на докторскую степень (это было в революционные дни 1905 г.). Тем не менее он в 1916 году был избран членом-корреспондентом Императорской Санкт-Петербургской академии наук. Последующие выборы в академию в социалистический период — в 1921, 1929, 1939 гг. — не провели его в состав действительных членов. Больше того, в 1939 году против Кольцова была проведена беспрецедентная кампания критики и унижений. Зато в 1939 году действительным членом стал Лысенко, а Сталин был удостоен звания почетного члена АН СССР, что стало хорошим подарком от научной корпорации к его 60-летию. Неизбрание Кольцова в академию — это тоже один из парадоксов, разве что сравнимый с аналогичной ситуацией с Д.И. Менделеевым. Конечно, неплохо, что как бы в противовес Н.К. Кольцову в 1933 году был избран почетным членом Эдинбургского Королевского общества. В середине 30-х годов последовал ряд формальных признаний и на родине. В 1934 году ему было присвоено звание заслуженного деятеля науки РСФСР. Как уже указывалось, в 1935 г. он был избран действительным членом ВАСХНИЛ. В этом же году ему была присуждена степень доктора зоологии (в то время проводилась общесоюзная акция остепенения без защиты диссертаций). Надо упомянуть о том, что в 1936 году Н.К. Кольцов был избран почетным членом Московского общества испытателей природы. Он был очень активным его членом и часто выступал на его заседаниях. О царских и советских орденах и наградах ученого в литературе не сообщается.

В отношении увековечения памяти Николая Константиновича Кольцова можно сказать следующее. После отставки Н.С. Хрущева и смещения Т.Д. Лысенко в середине 60-х годов стало возможным вернуть стране забытые имена ее национальных героев на научном поприще. В первую очередь, это коснулось имен Н.И. Вавилова и Н.К. Кольцова. В системе АН СССР в 1967 году был создан Институт биологии развития (ИБР), объединивший научное наследие и кадры, воспитанные Кольцовым, в том числе прямых учеников. В 1975 году институту было присвоено имя Н.К. Кольцова. В это же время был проведен ряд мероприятий в связи со столетием со дня рождения ученого. Стали регулярно проводиться на базе ИБР кольцовские чтения (в 2009 году состоялись XII чтения). Была учреждена премия имени Н.К. Кольцова РАН за выдающиеся работы в области молекулярной генетики (присуждается с 1994 г.

с периодичностью 3 года). В 1979 году научному городку (в нем находился ВНИИ молекулярной биологии — ныне ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор») вблизи Новосибирска было дано название «Кольцово» в честь выдающегося ученого. В 2003 году пос. Кольцово получил официальный статус наукограда. Имеется у этой истории и продолжение: один из астероидов назван «9154 Кольцово». Архив РАН, обладающий документами Н.К. Кольцова (фонд 450, 777 единиц хранения), ведет большую изыскательскую работу по изучению его материалов, периодически организует выставки, на которых представляются редкие рукописи, статьи, рисунки и иные предметы, связанные с личностью и делами ученого.

Особенно надо упомянуть роль преданного кольцовского ученика Бориса Львовича Астаурова, который сумел собрать и сохранить наследие учителя (в том числе его бесценную библиотеку), объединить его учеников и последователей в один коллектив (13 заведующих лабораториями из 17 были представителями школы Н.К. Кольцова), оградить его имя от искажения и шельмования как контрреволюционера и антисоветчика. А самое главное — Б.Л. Астауров смог воссоздать кольцовский дух в институте, что и по сей день выделяет его среди академических учреждений. Кольцов — гений, и поэтому воспринимался по-разному в зависимости от интеллекта: талантливые люди — срабатывали в резонанс и впадали в безграничное обожание, эгоистичные — подмечали экстравагантность или странность, завистливые или с низкой душой — искали отрицательное, обыватели — видели седого старика с висячими усами. Б.Л. Астауров относился к первым. Именно он предпринял своевременные меры по восстановлению доброго имени учителя, обратившись с ходатайством к президенту АН СССР о проведении комплекса мемориальных мероприятий по случаю 100-летия со дня рождения Н.К. Кольцова. К сожалению, преждевременная смерть в 1974 г. не позволила ему лично претворить в жизнь все запланированное.

Из высказываний о Н.К. Кольцове наибольшее значение имеют ретроспективные объективные оценки авторитетных специалистов. Современники или близкие люди зачастую дают характеристики несколько субъективные, с эмоциональной окраской. Поэтому среди многих цитат одной из самых подходящих может служить оценка академика В.А. Энгельгардта, данная с высоты его собственного высокого положения в отечественной науке: «Не будет преувеличением сказать, что огромная заслуга всего развития физико-химической биологии в Советском Союзе, в первые решающие периоды его

становления, целиком должна быть отнесена за счет необычайно плодотворной деятельности выдающегося исследователя, организатора и пропагандиста науки — Николая Константиновича Кольцова» (цит. по: [22]).

*Список работ и литература о нем.* Полные списки работ Н.К. Кольцова приведены в книге «Кольцов Н.К.: 1872–1940» (1976) из серии «Материалы к биобиблиографии ученых СССР» [20] и в книге Б.Л. Астаурова, П.Ф. Рокицкого «Николай Константинович Кольцов» (1975) [2]. Их сравнительно немного, учитывая интенсивность труда ученого: всего 161. Это объясняется кредо Николая Константиновича: печатать факты, только полученные им самим (о приписываниях к чужим статьям не могло быть и речи). Но среди публикаций из указанных списков есть, по крайней мере, пять, напечатанных на немецком языке в ведущих журналах мира («Biol. Zbl.», «Arch. mikr. Anat.», «Arch. Zellforsch.») в 1903, 1906, 1908, 1911, 1928 [36–40] и их аналоги на русском языке [14, 15, 18, 19], которые выделяются на общем фоне. Это работы о цитоскелетных элементах (принцип Кольцова) и о механизме самоудвоения наследственной молекулы (предсказание репликации ДНК). Указанных пяти работ вполне достаточно, чтобы записать имя Кольцова золотыми буквами в историю биологии. А ведь им сделано еще так много!

Наиболее значимые исследования автора были суммированы им еще при жизни в сборнике «Организация клетки» (1936) [17]. Были посмертные переиздания: в 1965 г. — «Наследственные молекулы» (перепечатка статьи 1935 г. в «Бюлл. МОИП»), в 1968 г. — «Физико-химические основы морфологии. Наследственные молекулы» (в Сб.: Классики советской генетики, 1920–1940). Недавно в серии «Памятники отечественной науки» вышли «Избранные труды» Н.К. Кольцова (2006) [13].

За почти 50-летний период после «реабилитации» Н.К. Кольцова сформировалась довольно обширная литература о нем [6, 22 и др.]. Среди публикаций надо отметить работы прямых учеников [1, 30, 31, 34] — они помогают лучше воссоздать реальный образ ученого. Важной вехой в кольцовиане явилась уже неоднократно упомянутая книга В.М. Польшина [24], написанная с использованием документальных материалов, включая дневниковые записи Кольцова; к тому же она была первой книгой, изданной после организованного забвения большим тиражом — 28700. Непреходящее значение имеет научная биография Н.К. Кольцова, подготовленная Б.Л. Астауровым и П.Ф. Рокицким [2] — ее тираж 17400. Полезны также другие публикации, рас-

крывающие различные ракурсы жизни и деятельности ученого [5, 25, 33].

Отдельно следует указать на ценные многолетние исследования Е.В. Раменского, исполненные с уважением и глубокого уважения к Николаю Константиновичу [27–29]. Квалифицированная историографическая работа, в том числе с использованием архивных документов, по изучению роли Н.К. Кольцова в разработке евгенического направления проделана в последнее время Е.В. Пчеловым (2006) [26]. Евгенике посвящена и книга В.В. Бабкова (2008) [3]. Имеются Интернет-материалы об ученом, которые содержат ценную, достоверную информацию [4, 12, 21]. Что интересно, есть исследования о Кольцове и за рубежом [35].

Безусловно, яркая, незаурядная личность требует к себе постоянного внимания историков науки и общества в целом. Такие люди, как Кольцов, относятся к золотому фонду нации и вполне заслуживают выпуска полного академического издания сочинений, фундаментальных трудов об ученом, создания кинофильмов. Нужны сайт об исследованиях Кольцова и развитии его идей, подготовка подробной биографии для новых поколений (может быть, в серии «ЖЗЛ»). Мы все в долгу перед памятью этого великого труженика и мученика науки. То, что внимание к Николаю Константиновичу Кольцову не должно ослабевать, говорят хотя бы некоторые упущения в сохранении его материальных следов. Если в отношении тоже борца за генетику, его «собрата по несчастью» (если так уместно выразиться) Н.И. Вавилова в Москве (а также в Санкт-Петербурге и Саратове) была проделана определенная работа: установлены мемориальные доски на здании Тимирязевской академии, на здании по адресу Ленинский проспект, 33, на здании Московского государственного лингвистического университета им. М. Тореза (бывшего Коммерческого училища на Остоженке, где учился Николай Иванович), то практически ничего не сделано в отношении Н.К. Кольцова, коренного москвича и гордости всей России. К тому же с исторической точки зрения несколько необычен такой факт, что представители следующих после Кольцова поколений биологов отмечены мемориальными досками, например, на здании по адресу Ленинский проспект, 33, а сам основатель всей биологии в стране незаслуженно забыт.

Между тем прекрасно сохранились дореволюционные строения, связанные с ключевыми периодами в его жизни: Учреждение РАО «Научная педагогическая библиотека им. К.Д. Ушинского» по адресу Большой Толмачевский пер., 3 (здесь Кольцов учился в гимна-

зии), посольство Индии по адресу Воронцово поле, 6 (здесь 15 лет он работал директором). Наконец, место вечного упокоения ученого на Введенском кладбище, согласно реестрам, отнесено к памятникам регионального (!) значения [23]. Возможно ли такое в отношении Дарвина в Великобритании или Гумбольдта в Германии? А в России к ее национальному гению, оказывается, так относиться можно.

Однако не рукотворные памятники являются главными для науки и ее деятелей. Основным смыслом в научном познании служат идеи. Об этом очень хорошо сказал другой русский гений Н.И. Пирогов, также настрадавшийся от бюрократической системы и общественного недопонимания: «Время обсудит и оценит лучше нашего и наши убеждения и наши действия, а мы утешим себя лишь тем, что и здесь, на земле, — где все проходит, — есть для нас одно неразрушимое — это господство идей. И потому, если мы верно служили идее, которая, по нашему твердому убеждению, вела нас к истине путем жизни, науки и школы, то будем надеяться, что и поток времени не унесет ее вместе с нами».

## Литература

1. Астауров Б.Л. Памяти Н.К. Кольцова // Природа. — 1941. — № 5. — С. 108–117 (Перепечатана в кн.: Борис Львович Астауров: Очерки, воспоминания, письма, материалы. — М.: Наука, 2005. — С. 54–65).
2. Астауров Б.Л., Рокицкий П.Ф. Николай Константинович Кольцов. — М.: Наука, 1975. — 168 с.
3. Бабков В.В. Заря генетики человека. Русское евгеническое движение и начало генетики человека. — М.: Прогресс-Традиция, 2008. — 800 с.
4. Бабков В.В. О принципах организации института Н.К. Кольцова [Электронный ресурс]: <http://vivovoco.rsl.ru/VV/PAPERS/ECSE/KOLTZOV.HTM> (Дата обращения — 10.12.2010).
5. Борис Львович Астауров: Очерки, воспоминания, письма, материалы. — М.: Наука, 2005. — 427 с. — (Серия «Ученые России. Очерки, воспоминания, материалы»).
6. Винберг Г.Г. Кольцовское начало // Химия и жизнь. — 1972. — № 7. — С. 31–34.
7. Воробьев В.С., Португалов В.В. Микротрубочки в нервной системе // Архив АГЭ. — 1980. — Т. 79. — С. 5–24.
8. Воробьева О.В. К 70-летию выхода книги Н.К. Кольцова «Организация клетки» // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. — 2006. — Т. 2. — С. 78–79.
9. Воробьева О.В. К 80-летию выхода в свет статьи Н.К. Кольцова «Физико-химические основы морфологии» // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. — 2008. — Т. 4. — С. 64–66.
10. Гранин Д.А. Зубр. — Л.: Советский писатель, 1987. — 288 с.
11. Завадовский М.М. Страницы жизни. — М.: Изд-во МГУ, 1991. — 336 с.
12. Кольцов Н.К. Знаменитые люди России [Электронный ресурс]: [www.uchenyeipoety.info/187](http://www.uchenyeipoety.info/187) (Дата обращения — 10.12.2010).
13. Кольцов Н.К. Избранные труды. — М.: Наука, 2006. — 295 с. — Серия «Памятники отечественной науки».
14. Кольцов Н.К. Исследования о сократимости стебелька *Zoothamnium alterans* // Биол. ж. — 1911. — Т. 2. — № 1/4. — С. 55–111.
15. Кольцов Н.К. Исследования о спермиях десятиногих раков с общими соображениями относительно организации клетки. — М.: Унив. тип, 1905. — 200 с.
16. Кольцов Н.К. Об изменении веса человека при неустойчивом равновесии // Изв. Ин-та эксп. биол. — 1921. — Вып. 1. — С. 25–30.
17. Кольцов Н.К. Организация клетки: Сб. экспериментальных исследований, статей и речей 1903–1935 гг. — М.-Л., Биомедгиз, 1936. — 652 с.
18. Кольцов Н.К. Физико-химические основы морфологии хромосом // Успехи эксперим. биологии. — 1928. — Т. 7. — № 1. — С. 3–31.
19. Кольцов Н.К. Физико-химические основы морфологии хромосом: Автореф. доклада на III Всесоюзном съезде зоологов, гистологов и эмбриологов. — Л., 1928. — С. 39–41.
20. Кольцов Н.К.: 1872–1940. — М.: Наука, 1976. — 78 с. — (Материалы к биобиблиографии ученых СССР).
21. Кольцов Николай Константинович / Энциклопедический словарь [Электронный ресурс]: [www.dic.academic.ru/dic.nsf/es/28113/...](http://www.dic.academic.ru/dic.nsf/es/28113/...) (Дата обращения — 10.12.2010).
22. Николай Константинович Кольцов (1872–1940) / В кн.: Творцы мировой науки: От античности до XX в.: Попул. биобиблиографич. энцикл. / Рос. Гос. Б-ка; Сост. З.П. Джинова, Г.В. Шандуренко. — М.: Пашков дом, 2001. — С. 622–626.
23. Объекты культурного наследия [Электронный ресурс]: [www.reestr.answerpro.ru/monument/?page=21](http://www.reestr.answerpro.ru/monument/?page=21) (Дата обращения — 24.11.2010).
24. Пohlen В.М. Пророк в своем отечестве. — М.: Советская Россия, 1969. — 126 с.
25. Прокофьева-Бельговская А.А. Портрет на фоне хромосом. — М.: Научный мир, 2005. — С. 70, 107–108.
26. Пчелов Е.В. Евгеника и генеалогия в отечественной науке 20-х годов // Гербовед. — 2006. — № 2. — С. 76–146.
27. Раменский Е.В. Академик Николай Константинович Кольцов // Химия и жизнь. — 1965. — № 5. — С. 30–37.

28. *Раменский Е.В.* Николай Константинович Кольцов (1872–1940) [Электронный ресурс]: <http://bio1september.ru/articlef.php?ID=200300610> (Дата обращения – 29.12.2010). Статья опубликована в газете «Биология», 2003, № 6, изд. Дома «Первое сентября».
29. *Раменский Е.В.* Николай Константинович Кольцов, 1872-1940 / Ин-т физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН. – М.: Наука, 2007. – 30 л. – (Научно-биографическая литература)
30. *Рапопорт И.А.* Кольцов, каким я его помню // Химия и жизнь. – 1972. – № 7. – С. 34–38.
31. *Рокицкий П.Ф.* Роль Н.К. Кольцова в развитии общей и экспериментальной биологии в нашей стране // Природа. – 1972. – № 7. – С. 24–31.
32. *Романюк С.К.* Из истории московских переулков. – М.: Сварог и К, 2000. – 648 с.
33. *Шварц А.Л.* Долгий путь к истине. Прозрение будущего. – М.: Детская литература, 1967.
34. *Энгельгардт В.А.* У истоков отечественной молекулярной биологии // Природа. – 1972. – № 6. – С. 55–56.
35. *Adams M.B.* Science, Ideology, and Structure: The Kol'tsov Institute, 1900–1970 / In: The Social Context of Soviet Science. L. Lubrano and S. Solomon (Eds.). – Boulder, CO Westview Press, 1980. – P. 173–204.
36. *Koltzoff N.K.* Physikalisch-chemische Grundlage der Morphologie // Biol. Zbl. – 1928. – Bd. 48. – H. 6. – S. 345–369.
37. *Koltzoff N.K.* Studien ueber die Gestalt der Zelle. I. Untersuchungen ueber die Spermien der Decapoden als Einleitung in das Problem der Zellengestalt // Arch. mikrosk. Anat. entw. Mech. – 1906. – Bd. 67. – S. 365–572.
38. *Koltzoff N.K.* Studien ueber die Gestalt der Zelle. II. Untersuchungen ueber das Kopfskelett des tierieschen Spermiums // Arch. Zellforsch. – 1908. – Bd. 2. – S. 1–65.
39. *Koltzoff N.K.* Studien ueber die Gestalt der Zelle. III. Untersuchungen ueber Kontraktilitaet des Stammes von Zoothamnium alterans // Arch. Zellforsch. – 1911. – Bd. 7. – S. 344–423.
40. *Koltzoff N.K.* Ueber formbestimmende elastische Gebilde in Zellen // Biol. Zbl. – 1903. – Bd. 23. – S. 680–696.
41. *Timofeeff-Ressovsky N.W.* N.K. Koltzoff (1872–1940) // Naturwissenschaften. – 1941. – Bd. 29. – H. 9. – S. 121–124.

**Резюме.** В работе представлены материалы о жизни и деятельности выдающегося отечественного биолога Н.К. Кольцова (в связи с 70-летием со дня смерти).

*Ключевые слова:* биология, история, Н.К. Кольцов.

## TO THE 70<sup>TH</sup> ANNIVERSARY OF THE DEATH OF NIKOLAY KONSTANTINOVICH KOLTISOV

V.S. VOROBYEV

*Yu.A. Ovchinnikov Russian Biotechnological Society, Moscow*

The paper presents materials on the life and work of outstanding national biologist N.K. Koltsov (in the 70<sup>th</sup> anniversary of his death).

*Keywords:* biology, history, N.K. Koltsov.

## К 50-ЛЕТИЮ ВРУЧЕНИЯ НОБЕЛЕВСКОЙ ПРЕМИИ БЕРНЕТУ И МЕДАВАРУ ЗА ОТКРЫТИЕ ПРИОБРЕТЕННОЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ

О.В. ВОРОБЬЕВА\*

*ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России,  
Общество биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова, Москва*

50 лет назад Нобелевский комитет удостоил премии выдающихся иммунологов — австралийца Ф.М. Бернета и англичанина П.Б. Медавара, внесших существенный вклад в становление данной науки как раз в тот период, когда общий прогресс в познании молекулярно-биологических основ жизненных явлений был по сути лавинообразным и требовал от каждой отрасли работы на столь же высоком уровне. Указанная дата служит поводом для ретроспективного анализа индивидуального и общего вклада ученых в историческое развитие иммунологии. Вначале необходимо остановиться на кратких биографических сведениях об обоих Нобелевских лауреатах.

*Биографии ученых.* **Фрэнк Макфарлейн Бернет** родился 3 сентября 1899 года в г. Тралалгоне австралийской провинции Виктория. Отец — менеджер отделения Колониального банка Фрэнк Бернет, мать — Хадасса Поллок Бернет (урожденная Маккей). Оба родителя были выходцами из Шотландии. Так что Ф.М. Бернет наследовал от них превосходные качества шотландской нации: упорство, сосредоточенность, железную волю. Это вместе с огромным талантом позволило ему войти в ряд знаменитых этнических шотландцев — лауреатов Нобелевской премии: медика А. Флеминга, химиков У. Рамзая и А. Тодда и др. И хотя Бернет был горячим австралийским патриотом, тем не менее с исторической точки зрения важно знать указанные его генеалогические корни.

Макфарлейн с детства интересовался биологией, собирал энтомологические коллекции. Окончив

Джилонг-колледж, он поступил на медицинское отделение Ормонд-колледжа Мельбурнского университета.



В 1923 году Бернет получил диплом врача с отличием. Еще с 1922 г. он начал работать в Королевском Мельбурнском госпитале в качестве невролога. Однако по совету старших коллег он перешел в исследовательскую лабораторию этого же госпиталя, где занялся изучением патологии. Данный выбор привел его затем в Институт медицинских исследований Уолтера и Элизы Холлов Мельбурнского университета, в котором он трудился в течение 40 лет вплоть до своей отставки в 1965 году.

Определяющим событием в жизни Бернета стала командировка в Великобританию в 1926 году, куда он добирался на корабле, выполняя обязанности судового врача. В Лондоне молодой исследователь работал в Институте Листера, где в 1927 г. получил докторскую степень за диссертацию, посвященную бактериофагам. В 1928 году вернулся в Мельбурн и там женился на Эдит

© 2010 г. Воробьева О.В.

\* **Автор для переписки:**

Воробьева Ольга Вадимовна,

Общество биотехнологов России

им. Ю.А. Овчинникова

119071 Москва, Ленинский пр.-т, 33

E-mail: ptashka095@rambler.ru, obr@biosinfo.ru

Линде Марстон Дрюс (австрийской подданной). У них родились сын и две дочери.

В связи со стажировками ученого нужно указать на существенный факт. Обычно биографы рассказывают о поездках Бернета по оси Мельбурн — Лондон без анализа причинных связей этих событий. Здесь в основе лежит патронат из центра со стороны выдающегося английского физиолога Генри Дейла, лауреата Нобелевской премии 1936 г., президента Лондонского Королевского общества (1940—1945 гг.). Он опекал своего ученика Чарльза Келлавея, ставшего в 1923 г. директором Института медицинских исследований Уолтера и Элизы Холлов, а тот, в свою очередь, поддерживал и продвигал Бернета, осознав его способности и перспективность (так, он назначил его своим заместителем в 1928 г. совсем молодым человеком). В итоге была организована первая трехлетняя командировка 1926—1928 гг., а затем вторая, вместе с семьей — в 1932—1934 гг. Эти 6 лет, проведенные начинающим исследователем в лучших английских лабораториях по изучению фагов и вирусов, во многом предопределили его карьеру и научную судьбу в целом.

В начале своей деятельности в конце 20-х годов Бернету по долгу службы пришлось расследовать причину гибели 12 детей («Бандабергская катастрофа»), которым была проведена вакцинация против дифтерии. Он установил, что смерть детей была вызвана загрязнением вакцины стафилококком. Это дало толчок к глубокому изучению им инфекций.

В 30-е годы Ф.М. Бернетом выполнены первоклассные работы в области вирусных и других инфекционных заболеваний, особенно актуальных для австралийского региона. Он исследовал грипп, полиомиелит, миксоматоз, энцефалит долины Муррей, пситтакоз, болезнь Цуцугамуши и др. Здесь Бернета ждала чрезвычайная удача: он открыл возбудителя Ку лихорадки, который в его честь был назван *Coxiella burneti*.

В цикле изучения фагов он исследовал феномен лизогении, им предложено использовать бактериофаг для типирования бактерий (*Shigella*).

В 1943 году Бернет стал директором Института медицинских исследований Уолтера и Элизы Холлов (прежний директор Чарльз Келлавей перешел на должность директора Фонда Welcome). Одновременно Бернет стал и профессором экспериментальной медицины Мельбурнского университета.

Начиная с 40-х годов интересы ученого переместились в сферу иммунологии, где ему удалось осуществить работы по иммунологической толерантности и формированию клонально-селекционной теории. Его

исследования по проблеме иммунологической толерантности были удостоены в 1960 г. Нобелевской премии по физиологии и медицине (совместно с П. Медавара).

Еще до получения Нобелевской премии его заслуги были высоко оценены: он был избран членом Лондонского Королевского общества (1942), в 1951 году ему был пожалован дворянский титул, в 1947 г. был награжден Королевской медалью, в 1959 г. — медалью Копли Лондонского Королевского общества и др. Однако после присуждения Нобелевской премии для Бернета началась эпопея всемирного признания, в особенности на родине. В Австралии в 1960 г. он был избран человеком года. Он стал президентом Австралийской академии наук (1965). Многие академии и научные общества других стран избрали его почетным членом. Он состоял почетным членом 30 академий, имел научные степени 30 университетов, был гостевым лектором в 33 странах. Награжден 19 медалями

В посленобелевский период возросла издательская активность Бернета: он выпустил ряд книг, которые стали широко известными в мире [17, 19]. Одна из его фундаментальных монографий была переведена на русский язык [2].

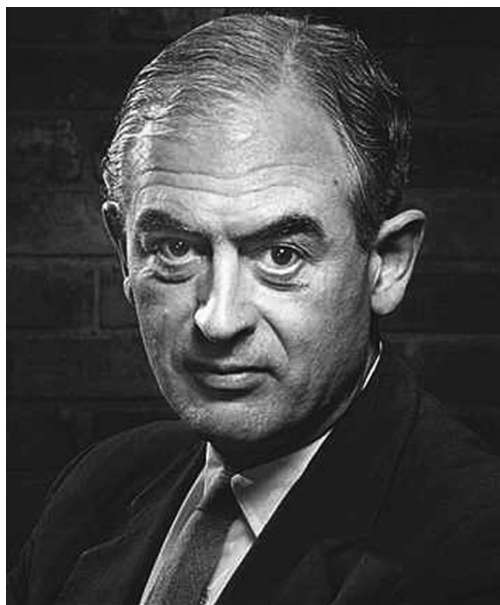
После ухода с поста директора (1965 г.) Бернет много времени уделял работе в Австралийской академии наук. Продолжал он и научные исследования по вопросам старения, аутоиммунных заболеваний, онкологии. В это время и ранее он написал ряд научно-популярных книг и статей по биологии, медицине и философскому осмыслению человека [14, 19], в том числе автобиографию [18]. Он выступил также с некоторыми публицистическими произведениями, в которых, например, упорно отстаивал уместность и целесообразность эвтаназии, критиковал молекулярно-биологический подход в медицине и др.

Ученый скончался от рака в Мельбурне (предчувствие близкой смерти не возвращало его к своим высказываниям об эвтаназии).

**Питер Брайан Медавар** родился 28 февраля 1915 года в Рио де Жанейро (Бразилия). Отец — Николас Медавар, бизнесмен, был ливанцем, получившим британское подданство. Мать — Эдит Мьюрел Доулинг, англичанка (в литературе ее нередко делают ливанкой вместо мужа). В 1918 г. семья Медавара переехала в Великобританию, где П. Медавар провел всю оставшуюся жизнь.

Среднее образование он получил в Мальборо-колледже. В 1932 году он поступил в Мадлен-колледж Оксфордского университета. С 1935 года, став бакалавром, начал работать на кафедре патологии этого университета под руководством Хоурда У. Флори,

будущего лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине 1945 г. за открытие пенициллина (совместно с А. Флемингом и Э.Б. Чейном).



С 1938 по 1944 гг. Медавар работал в Мадлен-колледже, а затем в течение двух лет состоял на должности старшего научного сотрудника в колледже св. Джона (Оксфорд).

Во время 2-й Мировой войны ему пришлось заняться разработкой вопросов трансплантации тканей на базе ожогового отделения Королевского лазарета в Глазго (Шотландия). На молодого исследователя произвело сильное впечатление выхаживание обгоревшего летчика в связи с трудностями приживления пересаживаемых участков кожи для устранения рубцов. Гетерогенные лоскуты кожи обычно отторгались. Тогда Медавар предложил способы гомогенной трансплантации неповрежденной кожи пациента в виде «кашицы», накладываемой на обожженные участки или раны.

Это направление исследований стало стержневым в его работе, что в конечном итоге привело к выдающемуся открытию в 50-х годах.

С 1947 по 1951 гг. Медавар был профессором зоологии в Бирмингемском университете, а с 1951 по 1962 гг. — в Университетском колледже Лондона. В эти годы ему вместе с сотрудником Р.Э. Биллингемом и аспирантом Л. Брентом посчастливилось поставить опыты на мышах, в которых была решена проблема «свой» — «чужой» при трансплантации, то есть доказана возможность приобретенной иммунологической толерантности. За это открытие ему совместно с Ф.М. Бернетом в 1960 году была присуждена Нобелевская премия (важная деталь:

Медавар разделил денежную часть премии со своими соавторами по ключевой публикации 1953 года в «Nature» — Р.Э. Биллингемом и Л. Брентом).

В 1962 году П. Медавар был назначен директором Национального института медицинских исследований в Милл-Хилле (Лондон). На этом посту он находился до 1971 г., когда перенес инсульт и был вынужден уйти из института, Тем не менее все равно ученый продолжал активно трудиться, занимая ответственные должности. Он был профессором экспериментальной медицины в Королевском институте (1977—1983). С 1966 года он состоял президентом Международного научного общества трансплантологов. В 1968—1969 гг. Медавар был президентом Британской ассоциации развития науки. С 1981 по 1987 гг. он являлся президентом Royal Postgraduate Medical School.

П. Медавар был женат на Джин Шингвуд Тейлор, у них родилось два сына и две дочери. Он умер 2 октября 1987 г. от повторного инсульта.

Ученый был очень активен в плане популяризации научных знаний, а также создания произведений философского содержания. Им написаны книги «Будущее человека» (1960) [46], «Индукция и интуиция в научном мышлении» (1969). Вместе с женой он издал книгу «Наука о живом. Современные тенденции в биологии» (1978) [47] — русский перевод вышел в свет в 1983 году [7]. Это кроме того, что он является автором свыше 200 научных работ.

Медавар напечатал интересную автобиографическую книгу «Воспоминания думающей редиски: автобиография» (1986) [45]. Надо сказать, что жанр научной автобиографии с дидактическими элементами для новых поколений, вступающих в науку, довольно распространен. Особую ценность они представляют в исполнении выдающихся исследователей. Такие прецеденты есть: книги Рамон-и-Кахаля (автобиография и советы молодым исследователям), «Двойная спираль» Дж. Уотсона, аналогичная книга Ф. Крика «What Mad Pursuit (1990)», «Искусство научного исследования» У.Я.Б. Бевериджа, автобиографии Ф.М. Бернета и П. Догерти и т.д. Следует подчеркнуть, что многие из указанных мемуаров содержат большую долю самоиронии, исполнены юмора, нередко сопровождаются парадоксальными высказываниями и т.д. Так что ждать готовых рецептов, как делать открытия, от подобных трудов не приходится. Конечно, в них имеются очень важные примеры для подражания в плане сосредоточения над проблемой и др. Лучшее из всех сказал об этом И.И. Мечников, что не надо искать открытия, они сами придут, если будешь трудиться.

Среди наград Медавара наиболее почетны: член Лондонского Королевского общества (1949), Королевская медаль (1959), медаль Копли Лондонского Королевского общества (1969), дворянский титул (1952), кавалер Ордена чести (1972).

*Сущность открытия.* Формулировка Нобелевского комитета при присуждении премии по физиологии и медицине 1960 года гласила «за исследования приобретенной иммунологической толерантности». 30–40 лет назад термин «иммунологическая толерантность» и особенно его главный смысл в плане расшифровки понятия «свой-чужой» были в центре внимания иммунологии [8, 9, 25, 36]. И не только как преемственная глава в этой бурно прогрессирующей науке в середине XX века, но и как концепция с далеко идущими последствиями в практическом аспекте: пересадка органов и тканей, решение проблем аллергии и аутоаллергии, онкологии, инфекционной патологии и др. Свен Гард из Каролинского института, представляя новых Нобелевских лауреатов, в своей приветственной речи провозгласил: «Они открыли новую главу в истории экспериментальной биологии, неопровержимо доказав возможность прямого изучения иммунологически активных тканей, что в свою очередь создало условия для дальнейшего проникновения в загадку природы иммунитета и таких нарушений иммунного процесса, которые приводят к развитию серьезных заболеваний». Как бы продолжая эту мысль, П. Медавар позже сказал в своей автобиографии: «Главное значение открытия толерантности было не практическим, а моральным. Оно давало новую надежду многим биологам и хирургам, которые работали, чтобы сделать возможной, например, пересадку почки от одного человека к другому» [45].

Иммунологическая толерантность — это утрата или ослабление способности организма к иммунному ответу на определенный антиген в результате предшествующего контакта с ним же. Слово «толерантность» в прямом смысле означает «терпимость». В контексте иммунологии оно эквивалентно, помимо непосредственной смысловой сущности «отсутствие иммунного ответа», синонимичным терминам: «ареактивность», «специфическая ареактивность», «антиген-специфическая невосприимчивость».

Ныне хорошо известно, что иммунологическая толерантность в естественных условиях приобретает к собственным антигенам индивидуума, называемым аутоантигенами, в процессе в процессе развития или в эксперименте после введения экзогенного антигена. Толерантность по-прежнему остается в центре внимания в плане понимания механизмов, поддерживающих

толерантность к «своему» («self-tolerance») и предотвращающих развитие аутоиммунных заболеваний, с одной стороны, и разработки стратегии индуцирования толерантности в желаемых ситуациях, с другой стороны, например, при пересадке органов.

Исторически разработка проблемы иммунологической толерантности возвращает нас к величайшим озарениям гения Пауля Эрлиха, который в числе других своих открытий ввел понятие «horror autotoxicus» («страх самоотравления»), предполагающее существование механизма, препятствующего образованию аутоантител. В литературе обычно этот факт приводится без объяснений. Однако в историко-медицинском исследовании целесообразно рассказать об этом поточнее. Ставя опыты на козах и убедившись, что если антитела образуются к эритроцитам чужой особи, то к собственным красным кровяным тельцам их не возникает, Эрлих сделал вывод: «Мы отметили, что организм обладает некоторыми способностями, с помощью которых иммунная реакция, так легко возникающая во всех типах клеток, предотвращается от действия против собственных элементов организма, давая таким образом возможность образования аутоксина ... так что можно говорить о «horror autotoxicus» организма» [35]. Кроме того, Эрлих предположил, что реагирующие на свои антигены лимфоциты могут быть заторможенными («молчащими») или стать толерантными при утрате рецепторов, специфичных к «своему». Это предвидение позже было доказано для антитела-продуцирующих В-клеток.

Следующей etapом является работа американского исследователя Р. Оуэна 1945 года [49], выполненная на dizиготных телятах-близнецах. У них из-за наличия в эмбриогенезе общей плаценты происходит взаимный обмен гемопоэтическими (стволовыми) клетками. Поэтому на этой «химерической» модели было показано, что родившиеся телята не отвечают иммунной реакцией на введенные в их организм клетки крови своего близнеца, однако нормально реагируют на эритроциты других телят.

Значение опытов Р. Оуэна первыми поняли Ф.М. Бернет и Ф. Феннер, которые предположили в 1949 году, что контакт иммунной системы в эмбриогенезе с антигенами разного происхождения может вызывать развитие специфической иммунологической ареактивности (толерантности) [23]. Гипотеза Бернета родилась не случайно. Он долгие годы работал с куриными эмбрионами, усовершенствовал методы культивирования вирусов на них и убедился, что у них не вырабатываются антитела к вирусам. Эта твердая исходная позиция привела его к предположению, что в эмбриональном периоде и в ран-



ней постнатальной жизни иммунокомпетентные клетки постепенно приобретают способность отличать свои и чужеродные клетки и вещества. Вот что написал об этом ученый во втором издании книги «Образование антител» (1949): «Если в эмбриональном периоде пересаживать клетки генетически различных линий, то не вырабатывается антител против антигенов чужих клеток, если животные находятся в независимом состоянии» [23]. Такая общая постановка вопроса в дальнейшем скорректирована исследованиями Дж. Ледерберга (1959) [37]. Тем не менее гипотеза Бернета послужила ориентиром для Медавара при постановке его эксперимента 1953 года.

Сам Ф.М. Бернет невысоко оценивал свой вклад в решение проблемы искусственной толерантности, В Нобелевской речи он заявил: «Моя доля в открытии приобретенной иммунологической толерантности была незначительна — это формулирование гипотезы, которая помогла сделать эксперимент» [24]. Более существенен, по мнению Бернета, его вклад в создание клонально-селекционной теории иммунитета. Отталкиваясь от гипотезы Н.К. Йерне (этот исследователь получил Нобелевскую премию в 1984 г.) о естественном отборе, основанной на селекционной теории П. Эрлиха, Бернет создал модель, названную им клональной селекцией [15]. По Бернету, на каждом лимфоците на поверхности имеются специфические иммуноглобулины, отражающие специфичность антитела, которые синтезируются клеткой при активации антигеном [21]. Антиген служит как селективный стимул, обуславливающий избирательную пролиферацию и дифференциацию клонов, на которых имеются рецепторы к антигену. Именно этот блок своих научных исследований Бернет считал одним из своих наивысших достижений, равно как и цикл работ по бактериофагам [18]. К тому же не следует забывать и открытие им возбудителя Ку лихорадки.

Ключевой эксперимент по доказательству приобретенной иммунологической толерантности был осуществлен П. Медавара, Р.Э. Биллингэмом, Л. Бренгом в 1953 году [11], что подтвердило предположение Ф. Бернета. Опыт был проведен на инбредных линиях мышей. Имунную реакцию к антигенам гистосовместимости устанавливали по отторжению кожного трансплантата. Было продемонстрировано, что мыши одной линии, которым в эмбриональном периоде вводили кроветворные клетки селезенки мышей другой линии, по достижении состояния зрелости не отторгали кожные трансплантаты мышей доноров, то есть аллотрансплантат приживался. Контроль с пересадкой кожных лоскутов от мышей третьей линии, отличающихся по антигенам гистосовместимости от обеих

линий (как доноров, так и реципиентов), показал отторжение аллотрансплантата по обычной схеме.

Следует упомянуть также, что в 1953 году чешским исследователем М. Гашеком были поставлены опыты на курах, аналогичные таковым Р. Оуэна, в которых иммуногенная толерантность была вызвана путем слияния мембран хорионаллантаиса у двух эмбрионов [34]. Тест проводили по отторжению аллотрансплантата у мышей. Для индукции толерантности необходимо введение достаточного количества живых гемопоэтических клеток непосредственно после рождения животных-реципиентов. Таково правильное ретроспективное объяснение экспериментов М. Гашека, однако сам автор, находясь под влиянием лысенковских идей, объяснил их как «вегетативную гибридизацию». После выхода в свет статьи Медавара с коллегами в «Nature» чешский ученый понял свою ошибку и в дальнейшем работал в русле мировой науки.

Суммарный эффект появления указанных публикаций был по достоинству оценен научным сообществом и вызвал соответствующую реакцию Нобелевского комитета, выразившуюся в награждении Нобелевской премией по физиологии и медицине 1960 г. двух главных действующих лиц этого события — Ф.М. Бернета и П.Б. Медавара. Пока неизвестна динамика номинаций, которыми представляли кандидатов на премию (согласно Нобелевскому статуту, сведения о номинациях обнародуются не ранее 50 лет после присуждения премии), тем не менее надо подчеркнуть объективную и своевременную позицию Нобелевского комитета. Присуждение Нобелевской премии стало особенно знаменательным фактом в биографии Ф.М. Бернета. Это был первый Нобелевский лауреат Австралии, что работало на подъем национального духа и способствовало созданию суперавторитета ученого на родине и за ее пределами. Благоприятствовал этому и сам национальный герой — высокий, атлетичный, с сильным фотогеничным лицом, общественно активный и большой патриот своей страны.

П. Медавара, как уже упоминалось, также был удостоен самых высоких почестей, в том числе получил дворянский титул. Так что его имя правильно представляется как Сэр Питер Брайан Медавара (соответственно и Сэр Фрэнк Макфарлейн Бернет).

*Историческое значение открытия иммунологической толерантности.* Присуждение Нобелевской премии в 1960 году за открытие приобретенной иммунологической толерантности стало не только формальным событием, отметившим труд выдающихся исследователей, но и знаковой вехой в истории иммунологии. Оно фактически свидетельствовало об отказе от устаревших

теорий иммунитета, уходящих корнями в конец XIX — начало XX вв., и создании современной иммунологии. Не случайно, что вторая половина XX столетия была ознаменована шестью Нобелевскими наградами за открытия в области иммунологии: кроме 1960 года, 1972 г. — за открытие химического строения антител, 1980 г. — за открытие генетически детерминированных структур поверхностей клеток, регулирующих иммунологические реакции, 1984 г. — за разработку теории idiotипической сети и техники получения гибридом, 1987 г. — за открытие генетического принципа происхождения разнообразия антител, 1996 г. — за открытия, касающиеся специфичности клеточно-опосредованной иммунной защиты. Это уступало только числу Нобелевских премий в области молекулярной биологии (около 15).

Решение проблемы иммунологической толерантности, то есть нахождения способа отличия «своего» от «чужого», как уже говорилось, послужило отправной точкой для разработки клонально-селекционной теории иммунитета Ф. Бернета [15, 21]. В данном русле иммунологическая толерантность (или ареактивность) уже рассматривалась как механизм, антагонистический иммунологической реактивности, которые вместе определяют принцип работы иммунной системы и обеспечивают целостную реакцию организма на собственные и чужеродные антигены.

Это не означает, что вопрос об иммунологической толерантности вошел только как субординационный элемент в общую систему иммунного регулирования. Он по-прежнему является самостоятельным рабочим механизмом и предметом научно-практических исследований при определении стратегии ведения больных с аутоиммунными, аллергическими и онкологическими заболеваниями, а также в трансплантологии [3, 53, 54]. Указанное связано с тем, что толерантность можно индуцировать искусственно и направлять с разными векторами в сторону ослабления или усиления.

За 50 лет, истекшие после вручения Нобелевской премии Бернету и Медавара, раздел иммунологии, посвященный иммунологической толерантности, существенно продвинулся в научном, методологическом и практическом отношении.

Прежде всего, раскрыты глубинные основы важнейшей функции предотвращения нежелательных реакций против собственных антигенов. Здесь были выяснены центральные (тимусные) и периферические механизмы выработки толерантности к аутоантигенам. Изучены вопросы клональной делеции аутореактивных Т-клеток. Аналогичным образом исследована роль толе-

рантности В-клеток к собственным антигенам. Показана также роль антигенпрезентирующих клеток, в том числе макрофагов. Речь идет о неспособности макрофагов поглощать антиген и преобразовывать его в иммуногенную форму. Важным шагом явилось выяснение значения клональной анергии на примере сначала В-клеток, а затем и Т-клеток.

В случае невозможности тканевым антигенам проникнуть в тимус и осуществить селекцию соответствующих клонов (отбор «запрещенных» клонов) запускается процесс на периферии, где осуществляется отрицательный отбор клонов. Это переводит аутореактивные клоны в состоянии анергии.

Указанные процессы происходят в норме и могут быть при искусственно вызванной толерантности, когда «чужой» антиген может восприниматься как «свой».

Отдельную актуальную проблему, кроме поддержания состояния толерантности к «своему», представляет установление толерантности к экзогенным непатогенным антигенам, включая аэрогенные и пищевые антигены. В основе этих явлений лежат множественные механизмы, которые обеспечивают толерантность к разнообразным непатогенным антигенам окружающей среды, и их поломка, вероятно, объясняет возникновение аллергии у взрослых. При этом предполагается, что в лечении и профилактике аллергии важная роль принадлежит индукции периферической толерантности. Как указывал известный аллерголог С. Akdis: «Если иммунный ответ осуществляется нормально, то иммунная система обнаруживает аллерген-специфическую толерантность, используя множественные механизмы для удержания интенсивности воспаления на низком уровне и допуская незначительную деструкцию тканей» [10].

Среди существенных моментов, раскрытых в ходе исследования общих проблем иммунологической толерантности, следует отметить демонстрацию факта, что состояние толерантности возникает при использовании низких и очень высоких доз аллергена, а обычный иммунный ответ вызывается средними дозами [60].

Имеется и ряд вопросов, которые требуют дальнейшей разработки, в частности, выяснение роли Т-супрессоров в формировании иммунологической толерантности.

Таким образом, резюмируя, можно еще раз подчеркнуть значимость даты общественного признания работ Ф.М. Бернета и П. Медавара, сыгравших ключевую роль в становлении современной иммунологии.

В заключение необходимо указать на библиографические источники. Довольно полные списки трудов

Ф. Бернета приведены в Интернет-материалах австралийских учреждений, связанных с его именем [32], а также на других сайтах [30, 31]. Характерной чертой публикаций Бернета была строгая персонализация авторства: его кредо — указывать свое имя только при личном вкладе. Ссылки на литературу об австралийском ученом — [1, 4, 6, 26–29, 33, 38, 51, 52, 54, 56]. Со списками работ П. Медавара можно познакомиться на сайтах [55, 57, 58], литература о нем — [1, 5, 6, 12, 13, 39, 41, 48, 50, 52, 54, 59]. Информация о процедуре награждения Нобелевской премией и выступлениях обоих лауреатов содержится на нобелевском сайте [16, 40] и в публикациях [20, 24, 43, 44].

## Литература

1. Аронова Е.А. Модели, метафоры и аналогии в науке об иммунитете / В кн.: История науки в философском контексте. Ред. А.А. Печенкин. — СПб.: РХГА, 2007. — С. 124–133.
2. Бернет Ф.М. Клеточная иммунология. — М.: Мир, 1971. — 542 с.
3. Иммунологическая толерантность [Электронный ресурс]: <http://humbio.ru/humbio/immunology/imm-gal/00093dd0.htm> (Дата обращения 21.11.2010).
4. Лауреаты Нобелевской премии: Энциклопедия: А–Л / Пер. с англ. — М.: Прогресс, 1992. — С. 117–120.
5. Лауреаты Нобелевской премии: Энциклопедия: М–Я / Пер. с англ. — М.: Прогресс, 1992. — С. 38–42.
6. Марьянович А.Т., Князькин И.В. Взрыв и цветение. Нобелевские премии по медицине 1901–2002. — СПб.: Издательство ДЕАН, 2003. — С. 378–387.
7. Медавар П.Б., Медавар Дж. Наука о живом. Современные концепции в биологии / Пер. с англ. — М.: Мир, 1983. — 207 с.
8. Толерантность иммунологическая / БМЭ. 3-е изд. Т. 25 / Фонталин Л.Н. — М.: Советская энциклопедия, 1985. — С. 132–135.
9. Фонталин Л.Н., Певницкий Л.А. Иммунологическая толерантность. — М.: Медицина, 1978. — 311 с.
10. Akdis C. Mechanisms of immune tolerance to allergens [Электронный ресурс]: [http://www.scitopics.com/Mechanisms\\_of\\_immune\\_tolerance\\_to\\_allergens.html](http://www.scitopics.com/Mechanisms_of_immune_tolerance_to_allergens.html) (Дата обращения — 07.12.2010).
11. Billingham R.E., Brent L. and Medawar P.B. Actively acquired tolerance of foreign cells // *Nature* (Lond.). — 1953. — Vol. 172. — P. 603–606.
12. Brent L. The discovery of immunologic tolerance // *Human Immunology*. — 1997 Feb. — Vol. 52. — N 2. — P. 75–81.
13. Brent L. To 50<sup>th</sup> anniversary of the discovery of immunologic tolerance // *N. Engl. J. Med.* — 2003 Oct 2. — Vol. 349. — P. 1381–1383.
14. Burnet F.M. 2000 A.D. — a biologist's thoughts on the next forty years // *Eugen. Rev.* — 1961. — Vol. 53. — P. 25–32.
15. Burnet F.M. A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection // *Australian J. of Science.* — 1957. — Vol. 20. — P. 67–69.
16. Burnet F.M. Banquet speech. The Nobel Prize in Physiology or Medicine [Электронный ресурс] [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1960/medawar-speech.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1960/medawar-speech.html) (Дата обращения — 05.12.1960).
17. Burnet F.M. Cellular Immunology. 2 vols. — Melbourne: Melbourne University Press, 1969; London: Cambridge University Press, 1969 (есть русский перевод 1971 г. — см. [2]).
18. Burnet F.M. Changing Patterns: an Atypical Autobiography. — Melbourne: William Heinemann, 1968.
19. Burnet F.M. Credo and Comment. A Scientist Reflects. — 1979.
20. Burnet F.M. Immunological recognition of self // *Science.* — 1961. — Vol. 133. — P. 307–311.
21. Burnet F.M. The clonal selection theory of acquired immunity. — Nashville, TN: Vanderbilt University Press, 1959.
22. Burnet F.M. The Production of Antibodies: a Review and Theoretical Discussion Monograph from the Walter and Elisa Hall Institute of Research in Pathology and Medicine. No 1. — Macmillan, Melbourne, 1941.
23. Burnet F.M., Fenner F. The Production of Antibodies. 2<sup>nd</sup> ed.: Monograph of Walter and Elisa Hall Institute. — Melbourne: Macmillan, 1949.
24. Burnet Frank M. Immunological recognition of self. Nobel lecture. The Nobel Prize in Physiology or Medicine / In: Les Prix Nobel en 1960. — Stockholm, 1961. — P. 689–701.
25. Cellular and molecular mechanisms of immunological tolerance. Ed. by T. Hrabá and M. Hasek. — N.Y., 1981.
26. Doherty P.C. Burnet Oration: Living in the Burnet lineage // *Immunology and Cell Biology.* — 1999. — Vol. 77. — P. 167–176.
27. Fenner F. and Ada G. Frank MacFarlane Burnet: two personal views // *Nature Immunology.* — 2007. — Vol. 8. — P. 111–113.
28. Fenner F. Frank Macfarlane Burnet 1899–1985 // *Biographical Memoirs of Deceased Fellows of Australian Academy of Sciences* [Электронный ресурс]: [www.asap.unimelb.edu.au/bsparcs/aasmemoirs/burnet.htm](http://www.asap.unimelb.edu.au/bsparcs/aasmemoirs/burnet.htm) (Дата обращения — 26.11.2010).
29. Frank MacFarlane Burnet [Электронный ресурс]: [http://en.wikipedia.org/wiki/Sir\\_Burnet](http://en.wikipedia.org/wiki/Sir_Burnet) (Дата обращения — 01.12.2010).
30. Frank MacFarlane Burnet bibliography [Электронный ресурс]: [http://en.wikipedia.org/wiki/Frank\\_Macfarlane\\_Burnet\\_bibliography](http://en.wikipedia.org/wiki/Frank_Macfarlane_Burnet_bibliography) (Дата обращения — 01.12.2010).
31. Frank MacFarlane Burnet bibliography [Электронный ресурс]: [http://en.wikipedia.org/wiki/List\\_of\\_books\\_by\\_Frank\\_Macfarlane\\_Burnet](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_books_by_Frank_Macfarlane_Burnet) (Дата обращения — 01.12.2010).

32. Frank Macfarlane Burnet Guide to Recjrds. Series 4 [Электронный ресурс]: [www.austehc.unimelb.edu.au/guides/burn/burn.html](http://www.austehc.unimelb.edu.au/guides/burn/burn.html) (Дата обращения – 01.12.2010).
33. Goding J. Sir Frank Macfarlane Burnet. Australian Society for Immunology, Inc. [Электронный ресурс]: [www.immunology.org.au/burnet.html](http://www.immunology.org.au/burnet.html) (Дата обращения – 28.11.2010).
34. Hasek M. Parabiosis of birds during embryonic development // *Cesk. Biol.* – 1953. – Vol. 2. – P. 265–277.
35. Himmelweit F. Collected Papers of Paul Ehrlich. – London: Pergamon, 1956–1960. – P. 253.
36. Immunological tolerance to self and non-self. Ed. by J.R. Battisto et al. – N.Y., 1982.
37. Lederberg J. Genes and antibodies // *Science.* – 1959. – Vol. 129. – P. 1649–1653.
38. Mackay I.R. Autoimmunity: Paradigms of Burnet and complexities of today // *Immunology and Cell Biology.* – 1992. – Vol. 70. – P. 159–171.
39. Medawar Jean. A very decided preference: Life with Peter Medawar, 1999. – 256 p.
40. Medawar P.B. Banquet speech. The Nobel Prize in Physiology or Medicine [Электронный ресурс]: [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1960/medawar-speech.html](http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1960/medawar-speech.html) (Дата обращения – 05.12.1960).
41. Medawar P.B. (Peter Brian) [Электронный ресурс]: <http://worldcat.org/identities/lccn-n79-59609> (Дата обращения – 07.12.2010).
42. Medawar P.B. Advice to a young scientist. – N.Y.: Harper and Row, 1979. – 109 p.
43. Medawar P.B. Immunological tolerance // *Science.* – 1961. – Vol. 133. – P. 303–306
44. Medawar P.B. Immunological tolerance. The Nobel Prize in Physiology or Medicine / In: *Les Prix Nobel en 1960.* – Stockholm, 1961. – P. 125–134.
45. Medawar P.B. Memoir of Thinking Radish. An Autobiography. – Oxford University Press, 1986. – 209 p.
46. Medawar P.B. The future of man. – N.Y., 1960. – 128 p.
47. Medawar P.B., Medawar J.S. Current ideas in biology. – London: Wildwood House, 1978 (есть русский перевод, 1983 – см. [7]).
48. Mitchinson N.A. Peter Brian Medawar. 28 February 1915 – 2 October 1987. Biographical Memoirs of the Royal Society [Электронный ресурс]: [www.jstor.org/stable/1769983](http://www.jstor.org/stable/1769983) (Дата обращения – 05.12.2010).
49. Owen R.D. Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins // *Science.* – 1945 Oct 19. – Vol. 102. – No 2651. – P. 400–401.
50. Peter Brian Medawar Biography (1915–1987) [Электронный ресурс]: <http://www.faqs.org/health/bios/54/Peter-Brian-Medawar.html> (Дата обращения – 05.12.2010).
51. Sexton Ch. The seeds of time: The life of Sir Macfarlane Burnet. 1<sup>st</sup> ed. – Melbourne: Oxford Univ. Press, 1991. – 301 p.
52. Silverstein A.M. A history of immunology. – Acad. Press, Inc., 1989 (есть издание 2009 – Health & Fitness, 530 p.).
53. Steinman R.M., and Nussenzweig M.C. Avoiding horror autotoxicus: The importance of dendritic cells in peripheral T cell tolerance // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA B.* – Jan 2002. – P. 351–358.
54. Wood K.J., Bushel A.R., and Jones N.D. The discovery of immunological tolerance: Now more than just a laboratory solution // *J. Immunol.* – 2010 Jan 1. – Vol. 184. – N 1. – P. 3–4.
55. [www.bookfinder.com/author/p-b-medawar/](http://www.bookfinder.com/author/p-b-medawar/)
56. [http://flaggedrevs.labs.wikimedia.org/wiki/Frank\\_Macfarlane\\_Burnet](http://flaggedrevs.labs.wikimedia.org/wiki/Frank_Macfarlane_Burnet).
57. [www.isbndb.com/d/person/medawar\\_p\\_b.html](http://www.isbndb.com/d/person/medawar_p_b.html).
58. [www.pipl.com/directory/name/Medawar/100](http://www.pipl.com/directory/name/Medawar/100).
59. [www.wikipedia.org/wiki/Peter\\_Medawar](http://www.wikipedia.org/wiki/Peter_Medawar).
60. Zouali M. Immunological Tolerance: Mechanisms / Encyclopedia of life science. – Nature Publishing Group, 2001. – P. 1–9 [Электронный ресурс]: [www.els.net](http://www.els.net) (Дата обращения – 05.12.2010).

**Резюме.** По случаю 50-летия со дня присуждения Нобелевской премии Ф.М. Бернету и П. Медавару проводится анализ их вклада в разработку проблемы иммунологической толерантности. Приводятся также биографические данные об ученых.

**Ключевые слова:** история науки, иммунология, иммунологическая толерантность, биографии, Фрэнк Макфарлейн Бернет, Питер Брайан Медавар.

## BY THE 50<sup>TH</sup> ANNIVERSARY OF THE NOBEL PRIZE BURNET AND MEDAWAR FOR THE DISCOVERY OF ACQUIRED IMMUNOLOGICAL TOLERANCE

O.V. VOROBYEVA

*Institute of Immunology, Yu.A. Ovchinnikov Russian Biotechnological Society, Moscow*

On the occasion of 50<sup>th</sup> anniversary of the Nobel Prize, F.M. Burnet and P. Medawar analysis of their contribution to the development problems of immunological tolerance. We also give biographical information on scientists.

**Keywords:** history of science, immunology, immunological tolerance, biographies, Frank Macfarlane Burnet, Peter Brian Medawar.

## СОБЫТИЯ ВТОРОЙ ПОЛОВИНЫ 2010 ГОДА

**5–7 октября 2010** года в Ганновере (Германия) прошла выставка «**BIOTECHNIKA 2010**». Это традиционное мероприятие в сфере биотехнологии, которое сочетает крупную торговую выставку с конференцией, партнерингом и другими современными формами общения специалистов. Представители Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова присутствовали на выставке и представили собственную экспозицию.

### **Международный саммит по трансферу технологий (Санкт-Петербург, 28–29 октября 2010 г.)**

28–29 октября 2010 года в Санкт Петербурге состоялся Международный саммит по трансферу технологий (TechTransferSummit Russia). Организаторами Саммита выступили некоммерческое партнерство «Союз предприятий биотехнологической отрасли» (Россия) и компания TTS Ltd. (Великобритания) при поддержке Государственной Думы ФС РФ, Министерства образования и науки РФ, Россотрудничества, Российской академии наук, Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова. С приветствием к участникам саммита обратились Полномочный представитель Президента России в Северо-Западном федеральном округе И.И. Клебанов, заместитель Минобрнауки России С.Н. Мазуренко, руководитель направления по промышленной биотехнологии Организации по экономическому сотрудничеству и развитию (ОЭСР) Марвин Дункан.

В саммите приняли участие свыше 180 человек, представляющих бизнес-структуры, научно-исследовательские институты, вузы, технопарки, специалисты по лицензированию, директора и менеджеры биотехнологических компаний из России и зарубежных стран. Из иностранных участников саммита следует отметить представителей NIH (США), Евросоюза, ОЭСР, СНГ, Индии, Китая, Германии, Франции, Великобритании, Израиля, INSERM, компаний Merck & Co., Procter & Gamble, выступивших с интересными докладами по вопросам защиты интеллектуальной собственности, передачи технологий, венчурного финансирования и инвестирования в сфере биотехнологии. С российской стороны участвовали ведущие биотехнологические и фармацевтические компании, инвестиционные и венчурные фонды, представители более 20 регионов страны. В рамках саммита состоялся семинар Россия —

ОЭСР «Формирование инновационной биоэкономики путем развития промышленной биотехнологии».

Саммит по трансферу технологий в биотехнологии — это одно из серии мероприятий, проводимых на регулярной основе в рамках глобальной инициативы. Впервые данный важный международный форум в области биотехнологии был организован в России. В ходе саммита были заслушаны пленарные доклады, состоялись круглые столы и панельные дискуссии, посвященные актуальным вопросам трансфера технологий, защиты интеллектуальной собственности, сотрудничества и партнерства. Мероприятие проявило себя в качестве реальной международной платформы для выстраивания эффективных отношений между разработчиками технологий и биотехнологическими производствами, создания благоприятного климата для успешного партнерства и сотрудничества.

### **Семинар «Заря генетики человека»**

**(Москва, 19 ноября 2010 г.):**

#### **К 90-летию Русского евгенического общества**

19 ноября 2010 года в Москве, в Государственном Дарвиновском музее состоялся семинар «Заря генетики человека», посвященный памятной дате — 90-летию со дня основания Русского евгенического общества. К этому событию было приурочено открытие выставки «Евгеника — младшая сестра генетики», хотя некоторые выступавшие не приняли это сравнение по существу: евгенические работы (например, В.М. Флоринского, 1834–1899, появились раньше генетики). К участникам семинара обратился член-корреспондент РАН И.А. Захаров-Гезехус (ИОГЕН), который дал краткий исторический анализ связи генетики с евгеникой. Затем с докладом «Н.К. Кольцов и русское евгеническое общество» выступил директор Архива РАН, к.и.н. В.Ю. Афиани. Он на основании подлинных архивных материалов представил данные о решающей роли Н.К. Кольцова в становлении в России евгенического направления, просуществовавшего около 10 лет после его основания осенью 1920 года (доклад сопровождался презентацией уникальных кольцовских документов, включая фотографии, рукописи, отчеты и т.д.). Следующее сообщение «Интеллект человека: наследуемость и роль в обществе» сделал сотрудник Института психологии РАН, д.п.н., профессор Д.В. Ушаков. В нем был дан обзор современных взглядов

на наследуемость интеллекта и его связь с различными факторами: генетическими, географическими, экономическими и др. Далее был заслушан доклад «Деятельность Русского евгенического общества в документах Архива РАН» сотрудница Архива РАН, к.и.н. Н.М. Осиповой, которая показала документальные свидетельства деятельности Русского евгенического общества: его устав, опросную анкету из 26 пунктов, на основании которой составлялась родословная, переписку членов общества и т.д. Доклад «Русское евгеническое движение в контексте науки и культуры 20-х годов» представил доцент РГГУ, к.и.н. Е.В. Пчелов. Он является автором книги «Родословная гениальности: из истории отечественной науки 1920-х гг.» (2008) и хорошо знаком с перипетиями истории Русского евгенического общества. Им проведен предметный и персональный анализ событий, связанных с функционированием и закрытием этого общества. В заключение выступила сотрудник Музея и Института антропологии МГУ им. М.В. Ломоносова Т.В. Томашевич с сообщением «Евгеническая нива российской антропологии». По долгу службы она является хранителем фактов и легенд отечественной антропологии, восходящей к именам В.В. Бунака и др., которые так или иначе соприкасались с евгеникой. Наибольшее внимание в своем докладе она уделила делам и личности М.В. Волоцкого, который по рекомендации Н.К. Кольцова глубоко изучил и опубликовал родословную

Ф.М. Достоевского. Известна его книга: Волоцкий М.В. Хроника рода Достоевского. 1506–1933. — М.: Север, 1933. — 444 с.

**3 декабря 2010 года** в Москве, в Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН состоялось очередное XXVI Энгельгардтовское чтение. С докладом «Природа патогенности вирусов» выступил член-корреспондент РАН В.И. Агол.

**9 декабря 2010 года** в Москве прошло собрание Союза предприятий биотехнологической отрасли. Оно было посвящено утверждению Стратегии развития биотехнологической отрасли промышленности Российской Федерации до 2020 года — Стратегии «БИО-2020». Было проведено обстоятельное обсуждение документа, после чего он был принят единогласно (Стратегия «БИО-2020» публикуется в настоящем номере).

**10 декабря 2010 года** в Стокгольме (Швеция) состоялось вручение Нобелевских премий. Нобелевская премия 2010 г. по физиологии и медицине была вручена Роберту Дж. Эдвардсу за разработку проблемы оплодотворения *in vitro*. Нобелевская премия 2010 г. по химии вручена Ричарду Хеку, Эй-ихи Негиши, Акире Сузуки за изучение «катализируемых палладием поперечных соединений в органических системах».

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), не более 25 цитированных авторов; обзоры — не более 20–24 стр. (в среднем 40000 знаков), 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 рубрикации, со списком литературы, но без резюме; 3) остальные материалы (письма в редакцию, хроникальные сообщения, рецензии и т.д.) представляются в произвольной форме.
4. Требования к оформлению содержания рукописи (таблицы, графики, формулы, фотографии, рисунки и др.). Рисунки прилагаются отдельно к тексту рукописи в бумажном и электронном виде в формате TIF или JPEG. Таблицы помещаются по ходу текста или прилагаются отдельно. Порядок оформления иллюстративного и иного дополнительного (пояснений, примечаний, благодарностей и т.д.) материала к текстам обычный.
5. Требования к цитированной литературе: Список литературы оформляется или в алфавитном порядке (вначале — литература на русском языке, затем — на иностранных), или по порядку упоминания и ссылок в тексте при использовании цифр. В последнем случае номер цитированного источника берется в тексте в квадратные скобки. Оформление отдельного источника литературы осуществляется в соответствии с общепринятыми для научных изданий библиографическими требованиями, включая международные установки (Index Medicus и др.).
6. Не допускается публикация работ, уже напечатанных или посланных в редакции других изданий.

7. При несоблюдении указанных правил статьи редакцией не принимаются.
8. Принятые к публикации рукописи проходят рецензирование, после чего принимается окончательное решение о возможности печатания. Отклоненные рукописи не возвращаются.
9. Редакция не несет ответственности за достоверность фактов, выводы и суждения, приведенные в представленном к печати и опубликованном материале авторов.
10. Редакция оставляет за собой право делать научную и литературную правку, в том числе сокращать объем статей.
11. Адрес редакции указан на титульном листе журнала.
12. Журнал является безгонорарным. Редакция резервирует для автора статьи по 1 экземпляру журнала. По вопросам приобретения отдельных номеров журнала следует обращаться в редакцию.



Подписано к печати 28.12.10  
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: 1190171 Москва, Ленинский пр-т, 33*

*Тел.: +7 (495) 648-09-13*

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