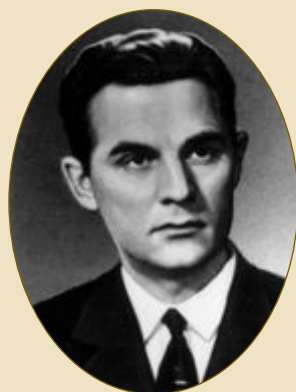


· БЕЛОЗЕРСКИЙ · ТОДД · СЕНГЕР · ОЧОА ·

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

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

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



Т. 8, № 4
2012

· СМИТ · ГИЛБЕРТ · БЕРГ · ЭНГЕЛЬГАРДТ ·

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.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), А.Н. Панин (Москва),
В.О. Попов (Москва), К.Г. Скрябин (Москва), 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@mail.ru

Издается при поддержке

Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова

ISSN 1996-4741

© Информационно-аналитический центр
медико-социальных проблем, 2012.

СОДЕРЖАНИЕ

Колонка главного редактора

К читателям. *Р.Г. Василов* 6

Оригинальные статьи

Активация и стабилизация целлюлаз при повышенных температурах в присутствии высокомолекулярных добавок.

Д.В. Тарабукин, М.А. Торлопов 7

Пищевая ценность икры рыб.

Е.А. Ахмерова, Л.Р. Копыленко, Т.Е. Рубцова 12

Краткие сообщения

Цианобактерии аридной зоны и их применение в агротехнологиях.

Ю.В. Батаева 21

Перспективы использования хищных грибов-гифомицетов в производстве противопаразитарных и противовирусных препаратов.

Г.Г. Ананько, Ж.Б. Ибрагимова, Н.А. Мазуркова, Т.В. Теплякова 23

Использование антимикробных пептидов для получения растений, устойчивых к заболеваниям.

Н.С. Захарченко, Е.Б. Рукавицова, Е.В. Локтюшов 25

Основы биотехнологии новых биопродуктов из чешуи и голов рыб на желатиновой основе.

М.В. Матковская, О.Я. Мезенова 27

Экспрессия и очистка мономера рекомбинантного белка трансформирующего фактора роста-бета1 (TGF- β 1) человека в клетках *Escherichia coli*.

Я.В. Ким, М.Э. Гаспарян 29

Изучение характеристик клубнеобразования у трансформантов картофеля с измененным гормональным статусом.

О.О. Колачевская, В.В. Алексеева, С.Н. Ломин, Л.И. Сергеева, Я.И. Бурьянов, Г.А. Романов 31

Обзоры

Биотопливные системы. Возможность реализации новых подходов при объединении биотехнологических и микроэлектронных исследований.

А.Н. Решетиллов, Р.Г. Василов, Т.А. Решетилова 33

Технологии прямой конверсии углекислого газа в биотопливо и биопластики с использованием генетически модифицированных цианобактерий.

Э.Б. Намсараев, Р.Г. Василов 42

Идентификация генно-модифицированных организмов с помощью гидрогелевых биологических микрочипов.

Д.А. Вершинкин, И.А. Гетман, С.И. Чижова, Д.А. Грядун, В.М. Михайлович, А.С. Заседателев, Г.А. Романов 52

Эколого-генетическая природа свойств продуктивности растений и пути создания инновационных технологий селекции для повышения урожая.

В.А. Драгавцев 54

Новые горизонты производства функциональных нутриентов.

Е.Г. Борисенко, К.В. Горин, Е.А. Борисенко, Нгуен Чыонг Занг, Чан Ван Ти, М.С. Каночкина, Л.А. Гулимова 58

Получение авиационного топлива из биоспиртов для современных двигателей. <i>М.А. Бешкарева, В.Ф. Третьяков</i>	61
Галофильные бактерии семейства Halomonadaceae из района промышленной разработки Верхнекамского месторождения солей как перспективные объекты биотехнологии. <i>Л.Н. Ананьина, Е.Г. Плотникова</i>	63
Нейролипиды – основа создания нового поколения лекарственных препаратов для борьбы с нейро-дегенеративными заболеваниями. <i>М.Г. Акимов, М.Ю. Бобров, Н.М. Грецкая, В.В. Безуглов</i>	65
Специфика маркетингового продвижения биорегиона на примере Чувашской Республики. <i>О.Т. Ергунова</i>	67
Эволюционные аспекты генетического контроля деления цианобактерий. <i>О.А. Кокшарова, А.Е. Васетенков</i>	69
Хроника	
События 2012 года	71
Правила для авторов	78

CONTENTS

Column of the editor-in-chief

To readers. *R.G. Vasilov* 6

Original articles

Activation and stabilization of cellulases at elevated temperatures in the presence of high-molecular additives.

D.V. Tarabukin, M.A. Torlopov 7

Nutritional value of fish eggs.

E.A. Akhmerova, L.R. Kopylenko, T.E. Rubtsova 12

Short communications

Cyanobacteria of the arid zone and their use in agricultural technologies.

Yu.V. Bataeva..... 21

Prospects for the use of predacious fungi Hyphomycetes in the production of antiparasitic and antiviral drugs.

G.G. Ananko, J.B. Ibragimov, N.A. Mazurkova, T.V. Teplyakova 23

The use of antimicrobial peptides for obtaining plants resistant to diseases.

N.S. Zaharchenko, E.B. Rukavtsova, E.V. Loktyushov..... 25

Biotech new bioproducts of scales and fish heads on a gelatin base.

M.V. Matkovskaya, O.Ya. Mezenova..... 27

Expression and purification of recombinant protein monomer of the human transforming growth factor-beta 1 (TGF- β 1) in *Escherichia coli*.

Ya.V. Kim, M.E. Gasparyan..... 29

Investigation of the characteristics of potato tubers in transformants with altered hormonal status.

O.O. Kolachevskaya, V.V. Alekseeva, S.N. Lomin, L.I. Sergeeva, Y.I. Buryanov, G.A. Romanov 31

Reviews

Biofuel systems. Ability to implement new approaches by combining biotechnology and microelectronics research.

A.N. Reshetilov, R.G. Vasilov, T.A. Reshetilova 33

Technology of direct conversion of carbon dioxide into biofuels and bioplastics from genetically modified cyanobacteria.

Z.B. Namsaraev, R.G. Vasilov 42

Identification of genetically modified organisms with hydrogel biological microchips.

D.A. Vershinkin, I.A. Getman, S.I. Chizhova, D.A. Gryadunov, V.M. Mihaylovich, A.S. Zasedatelev, G.A. Romanov 52

Ecological and genetic nature of the properties of plant productivity and ways to create innovative technologies to improve crop breeding.

V.A. Dragavtsev 54

New horizons for production of functional nutrients.

E.G. Borisenko, K.V. Gorin, E.A. Borisenko, Nguyen Truong Zhang, Tran Van Tu, M.S. Kanochkina,

L.A. Gulimova 58

Production of jet fuel from bio alcohol for modern engines. <i>M.A. Beshkareva, V.F. Tretyakov</i>	61
Halophilic bacteria of the family Halomonadaceae area of industrial development Verkhnekamskoye salts deposit as promising objects biotechnology. <i>L.N. Ananyina, E.G. Plotnikova</i>	63
Neurolipins – the basis of a new generation of drugs to combat neurodegenerative diseases. <i>M.G. Akimov, M.Yu. Bobrov, N.M. Gretzky, V.V. Bezuglov</i>	65
The specifics of marketing promotion bioregion on the example of the Chuvash Republic. <i>O.T. Ergunova</i>	67
Evolutionary aspects of the genetic control of the division of cyanobacteria. <i>O.A. Koksharova, A.E. Vasetenkov</i>	69
The chronicle	
Events in 2012	71
Rules for authors	78

К читателям

В четвертом номере 2012 года основное внимание уделено теме биоэнергетики: помещены два обстоятельных обзора, в которых обсуждены актуальные проблемы развития этого направления в нашей стране в рамках Технологической платформы «Биоэнергетика». В работе А.Н. Решетилова с коллегами рассматривается перспективность создания искусственных биотопливных элементов (главным образом микробных) на основе биоэлектрокатализа. В исследовании Э.Б. Намсараева, Р.Г. Василова анализируется вопрос о возможности формирования научно-исследовательской и технологической базы для прямого синтеза различного вида биотоплива из углекислого газа с применением генетически модифицированных клеток цианобактерий.

Авторы из Сыктывкара Д.В. Тарабукин и М.А. Торлопов в продолжение своего направления по изучению целлюлаз исследовали их активацию и стабилизацию при повышенных температурах в присутствии высокомолекулярных добавок. Группа исследователей из ВНИРО (Ахмерова Е.А. и др.) представила собственные оценки базовых характеристик икры разных видов рыб в плане ее использования в пищевой биотехнологии.

Редколлегия располагает материалами Международной конференции «Биология — наука XXI века», состоявшейся в Москве 24 мая 2012 года под патронатом Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова. В данный номер из них отобран ряд интересных работ, которые освещают различные аспекты теоретической и практической биотехнологии, а также фундаментальные проблемы генетики и молекулярной биологии. Среди них есть несколько статей, в которых поднимаются общие теоретические и методологические вопросы по профилю журнала (например, авторами Драгавцевым В.А., Борисенко Е.Г., Кокшаровой О.А. и др.).

В разделе «Хроника» помещена информация о том, как широко отмечалось в нашей стране и за рубежом 125-летие со дня рождения Н.И. Вавилова. Напечатан также некролог памяти недавно ушедшего из жизни вице-президента РАСХН Л.К. Эрнста, известного специалиста в области генетики и селекции сельскохозяйственных животных и сельскохозяйственной биотехнологии. Приводятся сведения о недавно опубликованных руководствах и учебниках.

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

АКТИВАЦИЯ И СТАБИЛИЗАЦИЯ ЦЕЛЛЮЛАЗ ПРИ ПОВЫШЕННЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ В ПРИСУТСТВИИ ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ДОБАВОК

Д.В. ТАРАБУКИН^{1*}, М.А. ТОРЛОПОВ²

¹ Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,

² Институт химии КНЦ Уральского отделения РАН, Сыктывкар, Республика Коми

Исследовали влияние добавок бычьего сывороточного альбумина, полиэтиленгликоля и их производных на стабилизирующий и активирующий эффекты при ферментативном гидролизе целлюлазами. Для бычьего сывороточного альбумина характерно наличие оптимальной концентрации, в диапазоне которой добавка, с одной стороны, не является мешающим фактором при воздействии ферментов на субстрат и в то же время обеспечивает повышение устойчивости биокатализаторов к тепловой денатурации. Наличие полиэтиленгликоля в реакционной среде показало, что стабилизирующий эффект возрастает с увеличением молекулярной массы добавки, а при повышении температуры среды — с уменьшением ее концентрации. Введение длинного гидрофобного заместителя в молекулу полиэтиленгликоля дает дополнительный стабилизирующий эффект.

Ключевые слова: целлюлазы, ферментативный гидролиз, активация, стабилизация.

Введение

Ферментативный гидролиз целлюлозосодержащих материалов как способ получения сахаров актуален ввиду отсутствия загрязняющих побочных продуктов и неагрессивных условий проведения реакций. Однако данный процесс довольно длителен и требует соблюдения стерильных условий из-за относительно мягких условий проведения процесса. Возможность проведения биохимических реакций с применением целлюлаз при повышенных температурах ставит задачу сохранения каталитической активности ферментов. Повышение температуры способствует увеличению доступности внутренних частей целлюлозного волокна для биокатализаторов вследствие его набухания, что приводит к интенсификации процессов гидролиза и к более равномерному вовлечению материала в этот процесс [2, 3]. Иммуобилизация на твердом носителе как метод повышения стабильности целлюлаз исключается по причине того, что основным субстратом для них служит целлюлоза и фермент должен подвижно действовать на ее поверхности. Прямая химическая модификация ферментов для увеличения термостабиль-

ности достаточно трудоемка и может быть экономически не оправдана.

Другая возможность для решения данной проблемы предполагает использование различных добавок, способных взаимодействовать с биокатализаторами, защищать их от инактивации, а по возможности улучшать биокаталитические свойства и при этом не уменьшать подвижность ферментов. Так, в работе [7] выявлено, что при гидролизе лигноцеллюлозных материалов добавление в реакционную среду бычьего сывороточного альбумина (БСА) способствовало уменьшению непродуктивного связывания целлюлаз с лигнином, а это в конечном итоге сказывалось на увеличении выхода продуктов гидролиза целлюлозы. В ряде работ было показано, что присутствие в реакционной среде таких неионогенных добавок, как Triton X-100, полиэтиленгликоль (ПЭГ), поливиниловые спирты, может позитивно сказаться на выходе продуктов гидролиза при использовании амилаз, липаз и целлюлаз [8].

Таким образом, целью нашей работы была оценка термopротекторных свойств БСА, полиэтиленгликолей и модифицированных полиэтиленгликолей по отношению к грибным целлюлазам при использовании последних в условиях, приводящих к термоинактивации.

Материалы и методы

В качестве источника целлюлаз был использован препарат Целлолюкс-Ф (Сиббиофарм, целлюлазная активность 2000 ед./г). В качестве стабилизаторов ис-

© 2012 г. Тарабукин Д.В., Торлопов М.А.

* Автор для переписки:

Тарабукин Дмитрий Валерьянович, к.б.н., н.с.

Институт биологии Коми научного центра

Уральского отделения РАН

167982 Республика Коми, Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28

Тел.: +7 (8212) 436828

E-mail: DVTarabukin@ib.komisc.ru

пользовали бычий сывороточный альбумин (Sigma) и полиэтиленгликоли с молекулярной массой (ММ) 1000, 4000, 15000, 40000 – лаурилхлорид, триэтиламин, тритилхлорид (Sigma-Aldrich), дихлорметан (ДХМ), N,N-диметилацетамид (ДМАА) – перед применением осушали и перегоняли [1].

Стабилизирующий и активирующий эффект оценивали по разнице выхода восстанавливающих сахаров (ВС) при гидролизе фильтровальной бумаги с добавкой стабилизатора и без него. Ферментативный гидролиз проводили при 50, 65 и 70 °С, массовые концентрации стабилизаторов применяли в диапазоне от 0,00625 до 0,25%. Рабочий объем составлял 2 см³, масса субстрата – 50 мг. Раствор ферментного препарата перед введением в реакционный объем пропускали через микропористую мембрану с диаметром пор 0,2 мкм. Содержание препарата Целлолюкс-*F* – 0,5% от массы фильтровальной бумаги. Содержание ВС определяли по методу Шомоди – Нельсона [4].

Синтез эфира лауриновой кислоты и ПЭГ 1 (на примере ПЭГ с ММ 6000). ПЭГ 1,0 г (166,7 мкмоль) растворяли в 10 см³ ДХМ и прибавляли 118,1 мг (1,67 ммоль) триэтиламина, после чего добавляли 218,8 мг (1,00 ммоль) лаурилхлорида. Реакционную смесь перемешивали 24 ч при 28 °С. Для выделения полимера реакционную смесь вливали в 50 см³ диэтилового эфира, выпавший эфир ПЭГ отделяли, промывали эфиром и пересаждали из ДХМ прибавлением этилового спирта.

ЯМР ¹³C (75 МГц DMSO-d₆), δ, м.д.: 173,75; 70,53; 63,30; 61,63; 45,81; 34,17; 31,84.

ЯМР ¹H (300 МГц DMSO-d₆), δ, м.д.: 12,00; 8,14; 8,06; 7,31; 3,61; 3,09; 1,42–1,37; 1,23.

ИК-спектр (KBr, ν, см⁻¹): 2885,5; 1965; 1734; 1467.

Синтез трифенилметилового эфира ПЭГ 2 (на примере ПЭГ с ММ 6000). ПЭГ 1,0 г (166,7 мкмоль) растворяли в 10 см³ ДМАА и прибавляли 118,1 мг (1,67 ммоль) триэтиламина, после чего добавляли 278,8 мг (1,0 ммоль) тритилхлорида. Реакционную смесь перемешивали 8 ч при 70 °С. Для выделения полимера реакционную смесь вливали в 50 см³ диэтилового эфира, выпавший эфир ПЭГ отделяли, промывали эфиром и пересаждали из ДХМ прибавлением этилового спирта.

ЯМР ¹³C (75 МГц DMSO-d₆), δ, м.д.: 170,62; 128,62; 127,67; 126,84; 70,45; 61,47; 45,82; 37,97; 35,09; 21,44; 8,56.

ЯМР ¹H (300 МГц DMSO-d₆), δ, м.д.: 7,37; 3,57; 2,95; 2,63; 2,01; 1,34.

ИК-спектр (KBr, ν, см⁻¹): 2885; 1965; 1467.

Результаты и обсуждение

Ранее нами было показано, что наличие в реакционной среде ионогенных полиэлектролитов приводит к снижению или полному ингибированию каталитической активности гидролаз. Нами и некоторыми авторами [5, 6] предполагается, что данный эффект обусловлен взаимодействием заряженных полимеров с поверхностью ферментов и, как следствие, созданием негативных конформационных изменений в нативной структуре биокатализаторов.

БСА – соединение, относящееся к заряженным полимерам, обладающее структурой, способной обеспечивать слабые водородные и ионные взаимодействия с ферментами. В данном исследовании БСА был добавлен в реакционную систему, содержащую субстрат и фермент. Как видно из рисунка 1, присутствие в реакционной среде БСА положительно сказывается на выходе продуктов гидролиза. Во всех случаях характерно наличие определенной оптимальной концентрации БСА, в диапазоне которой нефункциональный белок не является мешающим фактором при воздействии ферментов на субстрат и одновременно обеспечивает повышение устойчивости биокатализатора к тепловой денатурации.

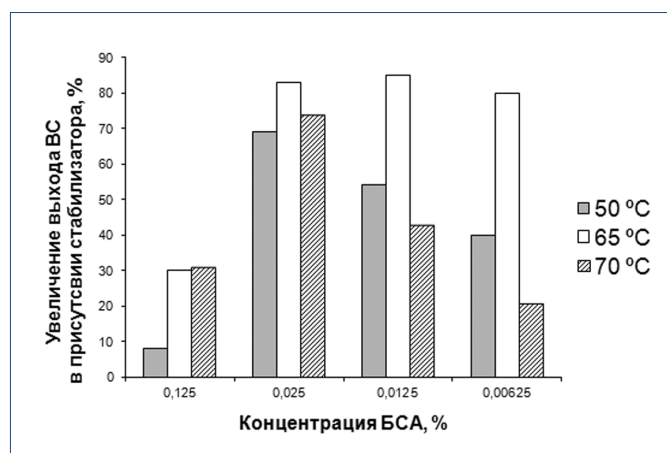


Рис. 1. Ферментативный гидролиз в присутствии стабилизатора – БСА

В следующих экспериментах была дана оценка термостабильности свойствам ПЭГ с различной молекулярной массой. Исходя из структуры ПЭГ, как и БСА, можно предположить, что они способны к слабым взаимодействиям с поверхностью молекул фермента, причем в основном за счет образования слабых водородных связей. Наличие ПЭГ в реакционной среде при температурном оптимуме ферментативного гидролиза (50 °С) положительно сказывается на дополнительном выходе продуктов гидролиза (рис. 2).

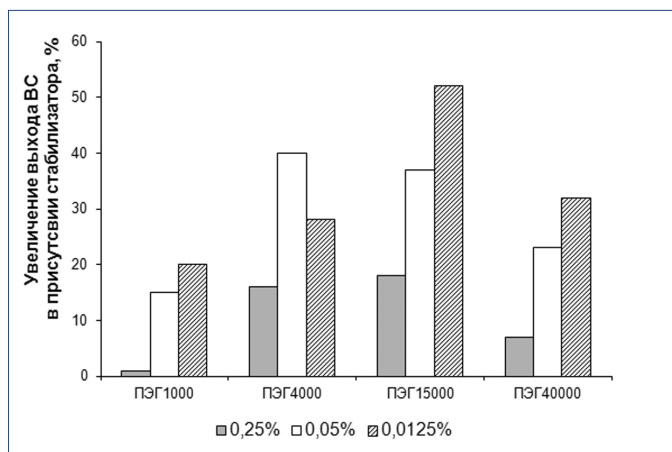


Рис. 2. Ферментативный гидролиз в присутствии стабилизатора – ПЭГ при 50 °С

В подавляющем большинстве случаев эффект усиливается при уменьшении концентрации высокомолекулярной добавки. Как и в случае БСА, следует сделать вывод о наличии некоторой оптимальной концентрации ПЭГ, при которой число слабых межмолекулярных взаимодействий между цепью полимера и поверхностью фермента создает положительный синергетический эффект, сказывающийся на выходе продуктов гидролиза. Проведение ферментативного гидролиза в денатурирующих (по температуре) условиях (рис. 3, 4) выявило, что эффект стабилизации смещается в сторону увеличения при использовании ПЭГ с высокой молекулярной массой, что приводит к большему выходу продуктов реакции. Надо отметить резкое уменьшение стабилизирующего эффекта при использовании низкомолекулярного ПЭГ с молекулярной массой 1000. Можно предположить, что длинные цепи высокомолекулярных ПЭГ образуют более прочные связи с поверхностью ферментов и, как следствие, — более устойчивые к термической денатурации нековалентные комплексы.

Лучший эффект ПЭГ по сравнению с БСА при 70 °С можно объяснить отсутствием термической денатурации со стороны добавки, а также более оптимальным связыванием с поверхностью ферментов и стабилизацией фермент-субстратных комплексов.

Дальнейшие исследования были направлены на применение модифицированных ПЭГ с целью достижения больших активирующих эффектов. Для модифицирования ПЭГ была избрана стратегия введения в структуру полимера гидрофобных фрагментов. В частности, в работе [8] указывается, что к значительному росту активности ферментов приводит добавление к системе Triton X-100 — неионогенного поверхностно-активного вещества (ПАВ), включающего в свой состав олигомер оксиэтилена и связанный с ним гидрофобный фрагмент.

Этерификацию ПЭГ осуществляли с целью введения по концевым группам полимера остатков лауриновой кислоты (соединение 1) и объемных трифенилметильных групп (соединение 2, рис. 5).

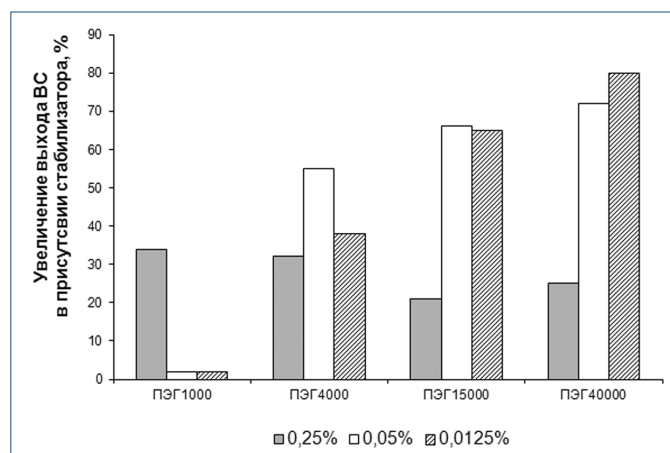


Рис. 3. Ферментативный гидролиз в присутствии стабилизатора – ПЭГ при 65 °С

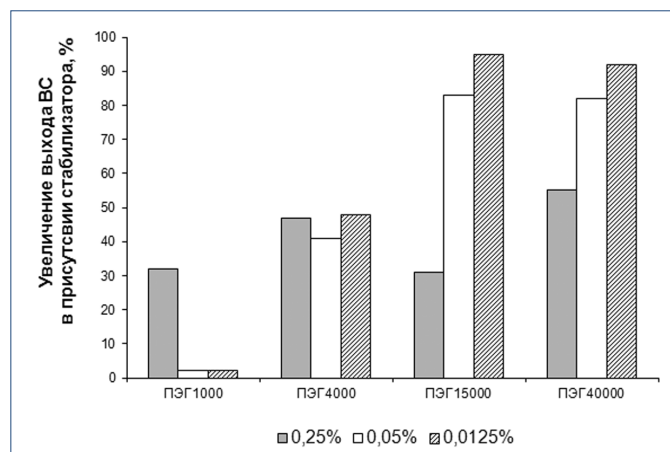


Рис. 4. Ферментативный гидролиз в присутствии стабилизатора – ПЭГ при 70 °С

В результате были получены соединения, растворимые в воде. Следует отметить, что включение указанных гидрофобных заместителей в структуру ПЭГ с ММ менее 6000 приводит к получению соединений с низкой водорастворимостью, что затрудняет оценку термостабилизирующей способности этих соединений. Структура сложного эфира 1 и простого эфира 2 подтверждена ЯМР-спектроскопией. Так, в ЯМР ¹³С спектрах сложного эфира ПЭГ и лауриновой кислоты присутствует сигнал в области 173 м.д., характерный для сложноэфирной связи, и группа сигналов в области 45–8 м.д., относящихся к углеродным атомам остатка алифатической кислоты. В спектре ЯМР ¹³С трифенилметилового эфира ПЭГ обнаруживаются сигналы ароматических структур в области 127 м.д.

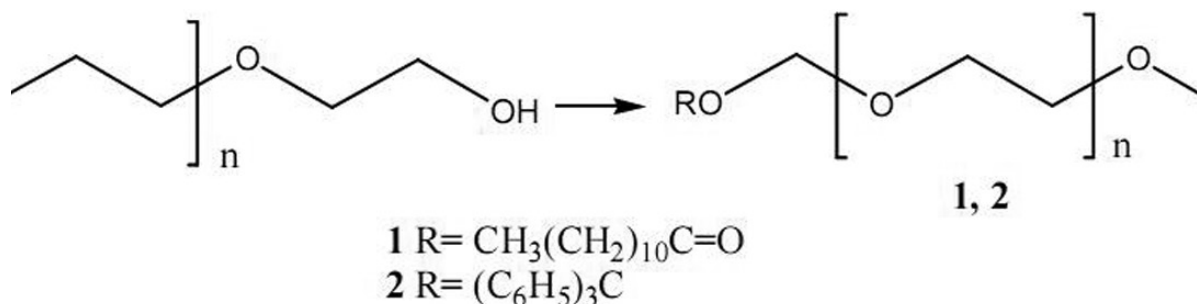
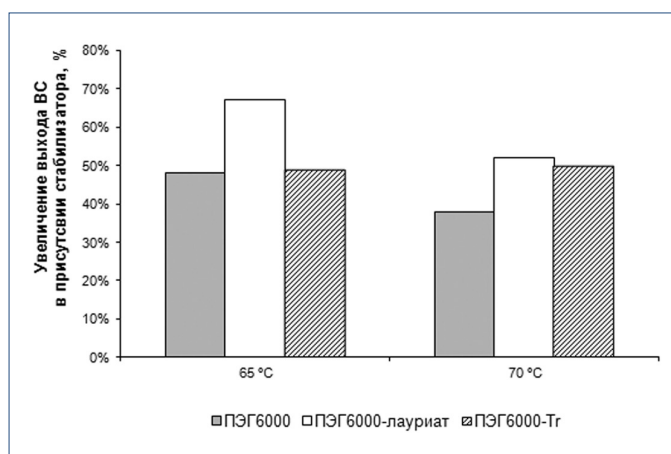


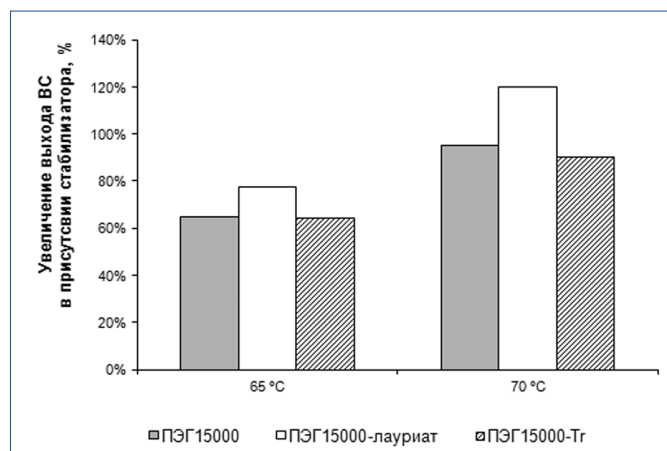
Рис. 5. Схема синтеза производных ПЭГ

Введение в макромолекулу ПЭГ₆₀₀₀ трифенилметильной группы не повлияло на общий выход продуктов гидролиза в большинстве изученных систем. Увеличение выхода ВС на 10% относительно немодифицированного ПЭГ₆₀₀₀ зафиксировано лишь в случае присутствия тритил-ПЭГ₆₀₀₀ в условиях гидролиза при температуре 70 °С (рис. 6, 7). Использование в качестве стабилизирующей добавки лаурил-ПЭГ, напротив, во всех случаях приводит к повышению выхода ВС. Наибольший прирост этого значения относительно немодифицированного ПЭГ для лаурил-ПЭГ₁₅₀₀₀ найден при температуре 70 °С (рис. 6, 7) и составил 23%.

Полученные результаты прямо указывают на то, что введение гидрофобных групп в структуру ПЭГ позволяет получить на этой основе полимер с более высокими стабилизирующими свойствами. Основываясь на представленных результатах, можно заключить, что введение в структуру ПЭГ гидрофобных фрагментов на основе алифатических углеводородов в этом отношении более перспективно, чем на основе ароматических.

Рис. 6. Ферментативный гидролиз в присутствии стабилизатора – ПЭГ и его модифицированных производных (ПЭГ₆₀₀₀, ПЭГ₆₀₀₀-лауриат, ПЭГ₆₀₀₀-Tr)

Поскольку исследование механизма стабилизирующего и активирующего действий различных полимерных соединений на ферменты не является целью данной работы, можно предположить, что оно представляется комплексным и основано, по-видимому, на слабых взаимодействиях (образовании многоточечных водородных и электростатических связей). Это предположение коррелирует с тем фактом, что увеличение ММ полимера приводит к росту его стабилизирующего и активирующего действия, то есть к образованию более устойчивых структур в результате интерполимерных взаимодействий.

Рис. 7. Ферментативный гидролиз в присутствии стабилизатора – ПЭГ и его модифицированных производных (ПЭГ₁₅₀₀₀, ПЭГ₁₅₀₀₀-лауриат, ПЭГ₁₅₀₀₀-Tr)

Заключение

Таким образом, в настоящем исследовании показано, что высокомолекулярные добавки на примере БСА и ПЭГ являются активаторами и стабилизаторами в процессе ферментативного расщепления целлюлозы. При этом стабилизирующий эффект зависит главным образом от молекулярной массы и природы

дополнительных гидрофобных групп в структуре ПЭГ. Полученные эффекты можно объяснить образованием нековалентных комплексов между цепями высокомолекулярных добавок и участками аминокислотных последовательностей ферментов, что приводит к стабилизации нативной структуры и, как следствие этого, сохранению и даже повышению активности биокатализаторов. Практическое использование результатов работы перспективно, прежде всего, в биохимических процессах получения продуктов реакций, где невозможно применить технологии иммобилизованных ферментов.

Работа выполнена при поддержке научного гранта молодых ученых и аспирантов УрО РАН: «Поведение биокатализаторов в бинарных системах, включающих ингибиторы и активаторы на основе природных и синтетических полимеров» (Номер проекта 13-43-НП-125).

Литература

1. Гордон А., Форд Р. Спутник химика. — М.: Мир, 1976. — 544 с.
2. Клесов А.А., Сеницын А.П. Ферментативный гидролиз целлюлозы. Влияние физико-химических и структурных факторов субстрата на эффективность ферментативного гидролиза // Биоорганическая химия. — 1981. — Т. 7. — № 12. — С. 1801–1812.
3. Петропавловский Г.И. Гидрофильные частично замещенные эфиры целлюлозы и их модификация путем химического сшивания. — Л.: Наука, 1988. — С. 298.
4. Польшалина Г.В., Чердниченко В.С., Римарева Л.В. Определение активности ферментов. — М.: ДеЛи принт, 2003. — С. 321.
5. Сабурова Е.А., Бобрешова М.Е., Елфимова Л.И. Ингибиторное действие полиэлектролитов на олигомерные ферменты // Биохимия. — 2000. — Т. 65. — № 8. — С. 1151–1161.
6. Тарабукин Д.В., Торлопов М.А. Володин В.В. Влияние ионогенных полисахаридов на активность целлюлолитических и амилолитических ферментов // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. — 2011. — Т. 7. — № 2. — С. 32–38.
7. Bin Yang, Wyman С.Е. BSA treatment to enhance enzymatic hydrolysis of cellulose in lignin containing substrates // Biotechnology and Bioengineering. — 2006. — Vol. 94. — No. 4. — P. 611–617.
8. Seung-Heon Yoon, Robyt J.F. Activation and stabilization of 10 starch-degrading enzymes by TritonX-100, polyethylene glycols, and polyvinyl alcohols // Enzyme and Microbial Technology. — 2005. — Vol. 37. — P. 556–562.

ACTIVATION AND STABILIZATION OF CELLULASES AT ELEVATED TEMPERATURES IN THE PRESENCE OF HIGH-MOLECULAR ADDITIVES

D.V. TARABUKIN¹, M.A. TORLOPOV²

¹ Institute of Biology, Komi Scientific Center, Ural Branch RAS,

² Institute of Chemistry KSC UB RAS, Syktyvkar, Komi Republic

Investigated the effect of supplementation of bovine serum albumin, polyethylene glycol and their derivatives on stabilizing and activating effects of the enzymatic hydrolysis which is implemented by cellulases. For bovine serum albumin characterized the optimal concentration in the range of which supplement the one hand, there is a disturbing factor in the action of the enzyme on the substrate and on the other hand, provides increased resistance to thermal denaturation of biocatalysts. The presence of PEG in the reaction mixture showed that the stabilizing effect grows with increasing molecular weight additives, and with an increase in temperature of the medium — with decreasing concentration. The introduction of a long hydrophobic substituents in the molecule of polyethylene glycol provides additional stabilizing effect.

Keywords: cellulases, enzyme hydrolysis, activation, stabilization.

ПИЩЕВАЯ ЦЕННОСТЬ ИКРЫ РЫБ

Е.А. АХМЕРОВА*, Л.Р. КОПЫЛЕНКО, Т.Е. РУБЦОВА

ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии», Москва

В связи с запретом на вылов осетровых рыб, дорогой ценой на икру рыб, выращиваемых в условиях аквакультуры, а также довольно высокими ценами на икру лососевых актуальным является более широкое использование потребителями доступной по цене икры других видов рыб. В работе проведена сравнительная оценка пищевой ценности икры морских и пресноводных рыб. Доступность представленных данных о пищевой ценности икры различных видов рыб позволит применять их при проектировании рецептурного состава продуктов питания, сбалансированных по аминокислотному составу белков и жирнокислотному составу липидов и предназначенных для детей.

Ключевые слова: икра рыб, химический состав, пищевая ценность.

Введение

Икра рыб — это ценный продукт, богатый легко перевариваемыми белками с полным набором незаменимых и заменимых аминокислот, липидами с высоким содержанием биологически активных полиненасыщенных жирных кислот, жирорастворимыми витаминами А, Д, Е и F, а также макро- и микроэлементами [5, 34].

О вкусовых достоинствах и полезности икры рыб люди знали еще до н.э. Икру осетровых использовали в пищу во многих странах: Древнем Египте, Древней Греции, Причерноморье и др. Солено-сушеную спрессованную икру кефали — «Ботарго» употребляют в Средиземноморье более 2500 лет [2, 9, 23, 24].

Клинические исследования, проведенные еще в первой половине XX века, показали, что пастеризованную икру не только осетровых, но и частичковых рыб в небольшом количестве (10 г в сутки) применяли для профилактики рахита у детей [1].

Запрет на использование икры, получаемой от осетровых рыб из естественных нерестилищ Каспийского бассейна, стимулировал развитие мирового рынка продукции из икры других видов рыб [23].

Ассортимент икорной продукции в России с каждым годом расширяется. Из наиболее востребованных рыбных продуктов в 2010 году доля икорной продукции составила 18%, из которых 12% приходится на икру зернистую лососевых рыб и 6% — на продукцию из икры других видов рыб [3].

Кроме того, рост популярности японской кухни привел к увеличению потребления икры летучих рыб «Тобико» со вкусом-ароматическими добавками, а также имитированной под нее икры мойвы и сельди [36].

Цель работы — сравнительная оценка пищевой ценности икры морских и пресноводных рыб.

Материалы и методы

В качестве объектов исследований использовали икру зернистую осетровых, лососевых и других видов пресноводных и морских рыб без учета периода вылова рыб и срока хранения икры. Сырьем для изготовления зернистой икры являлись ястыки рыб III и IV стадии зрелости, а также овулировавшая икра бестера, полученная прижизненным способом, либо икра летучих рыб, собранная с водорослей [10].

Массовую долю белка икры рыб определяли по методу Кьельдаля на автоанализаторе «Kjeltec-1003». Липиды выделяли по методу Блая — Дайера и определяли гравиметрическим методом, массовую долю воды — по ГОСТ 7636-75.

Аминокислотный состав белков определяли после кислотного гидролиза образцов в 6-н соляной кислоте на аминокислотном анализаторе «Hitachi AA835» по методу Стейна — Мура [37].

© 2012 г. Ахмерова Е.А., Копыленко Л.Р., Рубцова Т.Е.

* Автор для переписки:

Ахмерова Елена Ахатовна

научный сотрудник лаборатории аналитического и нормативного обеспечения качества и безопасности,

ФГУП «ВНИРО»

170140 Москва, ул. В. Красносельская, 17

E-mail: akhmerovaelena@mail.ru

Жирнокислотный состав липидов в виде этиловых эфиров анализировали на газо-жидкостном хроматографе «Shimadzu» GC-16A.

Исследования выполняли в Испытательной лаборатории «ВНИРО-ТЕСТ» ФГУП «ВНИРО» (Аттестат аккредитации РОСС-RU.000121П 72 Лицензия №77.01.13.001.Л000230.11.10).

Результаты и обсуждение

Как показывают результаты проведенных нами исследований и данные литературы, икринки разных видов рыб резко отличаются по размерам, и у одного и того же вида диаметр икринок изменяется в зависимости от района лова и степени зрелости (табл. 1).

Наиболее крупной является икра тихоокеанских лососей: диаметр икринок кеты варьирует от 5,0 до 7,0 мм, горбуши – 4,0–4,5 мм, нерки – 3,0–4,0 мм, осетровых рыб – белуги и калуги – диаметр икринок составляет 3,0–5,0 мм, осетра – 3–4 мм, бестера и севрюги – от 2,0 до 3,0 мм. Весьма близкое значение этого показателя у икры палтуса – 3,0 мм, нототении – 2,5–3,5 мм, гладкоголова – 2,0–3,0 мм, щуки – 2,5–2,6 мм, пинагора – 2,2–2,7 мм, жереха – 2,0 мм. Из осетровых самая мелкая икра у веслоноса – 1 мм в диаметре. Меньшие размеры у икринок пресноводных рыб: сома, судака, воблы, карпа, леща – от 0,8 до 1,6 мм. Самая мелкая икра у морских рыб: сельди, камбалы, лемонемы, лобана, трески: от 0,3 до 1,0 мм [7, 8, 11–17, 19, 20, 22, 26, 28, 31–33, 38].

Таблица 1

Размер и цвет икры некоторых рыб

Икра рыб	Размер икринок, мм	Цвет икры
Кета	5,0–7,0	оранжевый
Горбуша	4,0–4,5	светло-оранжевый
Белуга, калуга	3,0–5,0	различные оттенки серого
Нерка	3,0–4,0	красно-оранжевый с малиновым оттенком
Осетр	3,0–4,0	желтый, коричневый, черный
Палтус	3,0	бледно-желтый с кремовым оттенком
Нототения	2,5–3,5	кремовый и светло-желтый
Бестер	2,6–3,0	светло-серый, серый, серовато-коричневый
Севрюга	2,0–3,0	от светло-серого до темно-серого
Плешан (<i>Alepocephalus bairdii</i>)	2,0–3,0	от белого до кремового с желтым оттенком
Гладкоголов (<i>Alepocephalus rostratus</i>)	2,0–3,0	оранжевый
Летучие рыбы	1,3–3,0	золотистый, с буроватым оттенком
Щука	2,5–2,6	золотисто-желтый
Пинагор	2,2–2,7	от пурпурного до красноватого
Жерех	2,0	оттенки желтого и красного цветов
Макрурус	1,60–1,74	оранжевый
Клариевый сом	1,2–1,4	светло-желтый с зеленоватым оттенком
Судак	1,0	оттенки желтого и красного цветов
Вобла	1,0	светло-желтый
Сазан	0,8–1,6	желтый
Карп	0,8–1,6	от сероватых оттенков до зеленоватого цвета
Лещ	0,8–1,3	оттенки желтого и красного цветов
Сельдь	0,9–1,2	бледно-желтый
Камбала	0,8–1,2	от светло-розового до оранжевого и темно-красного
Скумбрия	0,8–1,0	желтый
Лемонема	0,6–0,9	бледно-желтый
Лобан	0,6–0,7	бледно-желтый
Треска	0,3–0,8	кремовый

Различно и число икринок в ястыках: так, самка сельди содержит около 120 тыс. штук икринок, трески — 1800–5700 тыс., наваги — 25–30 тыс., а у лососевых рыб число икринок в ястыках не превышает 8100 штук.

Цвет икринок рыб обусловлен присутствием липохромов и пигментов белкового характера, находящихся в виде мельчайших крупинок, расположенных на границе оболочки и желточной массы или растворенных в желточной массе, и зависит от вида рыбы.

Например, для белуги и севрюги характерен серый цвет с различными оттенками, для осетра — от темно-серого с коричневым или зеленым оттенком до черного; цвет икры от осетровых рыб-альбиносов может быть светло-кремовый. У икры горбуши — светло-оранжевый цвет, кеты — оранжевый, нерки — красно-оранжевый с малиновым оттенком [7, 13, 16, 26].

Цвет икры-сырца зависит от стадии зрелости ястыков: например, у пинагора цвет незрелой икры может быть зеленый, хотя зрелая икра имеет цвет от пурпурного до красноватого [38]. В процессе технологической обработки, особенно при посоле, цвет икры может

значительно меняться, например, от серого до черного — у осетровых рыб, от зеленовато-серого до розового и оранжевого цвета — у карпа и сазана.

Химический состав икры рыб, представленный в таблице 2, показывает, что наиболее высокое содержание белка отмечено в икре горбуши, кижуча и нерки — около 34%. Икра пресноводных рыб, таких как вобла, лещ, сазан, камбала, судак, корюшка, щука, по содержанию белка не уступает икре осетровых видов рыб — от 23 до 28%. Также большое количество белка содержится в икре камбалы и сельди — 23,2–24,7%; самое низкое содержание белка — в икре летучих рыб и трески: 17,0 и 20,3%, соответственно, что сопоставимо с литературными данными [7, 8, 11–17, 19, 20, 22, 26, 28, 31–33, 38].

Наибольшее количество жира содержится в исследованных образцах осетровой икры — от 12 до 19%, лососей — от 10,5 до 14,2%; несколько меньше жира отмечено в икре судака — до 11,1% и сазана — около 7%. Наименьшее содержание жира в икре трески, минтая, нототении, летучих рыб — от 0,5 до 2%.

Таблица 2

Химический состав и энергетическая ценность икры некоторых рыб

Икра рыб	Содержание, %				Энергетическая ценность, ккал/100 г
	белок	жир	вода	минеральные вещества, включая поваренную соль	
Осетр	27,3±1,1	14,8±2,5	53,8±1,8	4,5±0,1	242
Севрюга	28,3±0,9	14,5±4,3	52,8±1,2	4,6±0,1	244
Белуга	26,3±0,9	13,7±2,1	52,9±1,7	4,6±0,1	228
Горбуша	34,0±0,5	12,0±0,4	48,0±0,5	5,6±0,3	244
Кета	32,7±0,3	14,2±0,3	47,2±0,4	5,9±0,4	259
Нерка	34,1±0,4	10,6±0,2	49,7±0,6	5,6±0,4	232
Кижуч	33,9±0,2	10,5±0,7	49,6±0,5	6,0±0,2	230
Судак	23,0±4,0	11,1±2,0	43,7±3,0	8,4±1,0	204
Щука	28,1±1,7	2,0±0,5	60,5±1,1	8,4±0,4	130
Сазан	23,8±4,0	5,2±2,4	55,4±4,0	8,9±1,5	142
Лещ	26,2±1,7	3,5±0,8	57,6±0,6	9,0±0,8	136
Вобла	23,6±1,7	4,7±0,8	56,4±2,5	11,6±2,9	137
Корюшка	26,4±0,5	2,8±0,2	59,1±1,0	8,7±0,3	131
Сельдь	24,7±1,0	3,5±1,7	54,2±2,6	9,1±1,6	130
Камбала	23,2±3,5	3,6±1,8	60,5±0,8	11±2,0	125
Минтай	22,1±2,6	2,0±0,2	64,0±1,2	6,6±0,7	106
Треска	20,3±0,3	1,0±0,3	66,0±1,8	7,0±1,5	90
Нототения	21,3±1,3	0,5±0,2	67,6±1,8	6,4±2,5	90
Летучие рыбы	17,0±2,0	2,0±0,2	67,0±2,0	7,0±2,0	86

Содержание воды в икорной продукции зависит от видовых особенностей рыб, стадии зрелости ястыков, способа обработки икры. В зернистой икре осетровых видов рыб воды находится ≈ 53 – 54% . Для зернистой икры других рыб значение этого показателя колеблется в более широком диапазоне: для пресноводных рыб — $55,4$ – $60,5\%$, для морских рыб — $54,2$ – $67,6\%$. Наименьшее содержание воды — в икре лососевой: 47 – 50% , наибольшее — до $67,6\%$ — в икре нототении. Содержание минеральных веществ не превышает 2% , за счет поваренной соли значение этого показателя может составлять около 11% .

Самая высокая энергетическая ценность характерна для икры лососевых рыб: от 230 (кижуч и нерка) до 244 – 259 ккал (горбуша и кета) за счет высокого содержания белка и жира и для осетровых — от 228 до 244 ккал. Калорийность икры судака составляет 204 ккал, а калорийность икры камбалы, сельди, щуки, корюшки, леща, воблы, сазана колеблется от 125 до 142 ккал. Меньшей калорийностью, в основном за счет низкого содержания жира, отличается икра минтая, трески, нототении — от 90 до 106 ккал; наименьшее содержание калорий — 86 — характерно для икры летучих рыб.

Результаты исследований аминокислотного состава белков рыб, приведенные в таблице 3, свидетельствуют о том, что по содержанию ряда незаменимых аминокислот — валина, изолейцина, лейцина, лизина, треонина, суммы тирозина и фенилаланина — белки икры многих пресноводных и морских рыб превосходят «идеальный» белок [35].

По данным литературных источников, белки икры рыб по содержанию триптофана сопоставимы и даже превосходят «идеальный» белок [34].

Метионин и цистин являются лимитирующими кислотами для белков икры; в определенной степени низкое содержание этих серосодержащих аминокислот можно объяснить их потерей при гидролизе, который предшествует количественному анализу.

Сумма незаменимых аминокислот в икре осетровых рыб колеблется от $40,70$ до $44,76$ г/100 г белка, в то время как в икре лососевых — $47,30$ – $49,40$ г/100 г белка [13, 26]. Из числа незаменимых аминокислот в икре этих видов рыб отмечено высокое содержание лейцина, лизина, валина, суммы фенилаланина и тирозина; из числа заменимых преобладают такие кислоты, как глутаминовая, аспарагиновая, аланин, аргинин.

Сумма незаменимых аминокислот в белках икры морских и пресноводных рыб колеблется от $37,52$ до $49,70$ г/100 г белка. По содержанию лейцина белки исследованных рыб сопоставимы с белками осетровых и лососевых.

В белках икры сазана и летучих рыб отмечено высокое содержание лизина, а в белках кефали, сазана и сельди — наибольшее содержание фенилаланина и тирозина, также сопоставимое с белками осетровой и лососевой икры. По сумме незаменимых аминокислот белки исследованных рыб аналогичны.

Из заменимых аминокислот в белках икры исследованных рыб преобладает глутаминовая кислота — от $10,00$ до $17,40\%$. В белках икры наваги, сельди, щуки и летучих рыб отмечена высокая доля аспарагиновой кислоты, характерная и для икры осетровых и лососевых рыб, — от $8,33$ до $10,92$ г/100 г белка, в то время как в белках икры воблы и сазана содержание этой аминокислоты не превышает 3% , что согласуется с данными литературы [5, 11, 13, 26, 27, 31, 34–36].

Липиды, как и белки, являются существенными компонентами пищи, определяющими ее пищевую ценность. Это обусловлено различными свойствами отдельных классов липидов, а также биологической активностью некоторых жирных кислот.

К сожалению, литературные данные о фракционном составе липидов икры практически отсутствуют. Результаты наших исследований показали, что основным компонентом липидов икры являются триглицериды и липоидные вещества, к которым относятся фосфолипиды. В составе липидов идентифицированы также фракции моно-, диглицеридов, стероидов, жирных кислот, эфиров стероидов, восков, алкоксидиглицеридов (табл. 4).

Основная фракция липидов представлена триглицеридами, содержание которых составляет от 50% — в липидах икры летучей рыбы до 87 – 88% — в липидах икры горбуши и кижуча. Содержание этой фракции в липидах рыб варьирует в широких пределах. Так, из таблицы 4 видно, что на фракцию триглицеридов в липидах икры скумбрии приходится около 40% , что сопоставимо с массовой долей триглицеридов в липидах икры салаки — 40% ; в липидах икры минтая триглицериды составляют 23% , атлантического палтуса — 13% (в таблице данные по этим трем видам не приведены). При этом в липидах пресноводных рыб доля триглицеридов выше, чем морских.

По количеству фосфолипидов липиды икры сельди и осетровых рыб сопоставимы (около 12%). Значительно ниже содержание данной фракции в икре лососевых рыб, что характерно для липидов морских и пресноводных рыб. Главным стероидом липидов рыб является холестерин, который в липидах икры различных видов варьирует в достаточно широких пределах: в липидах икры кижуча он составляет $4,5\%$, а в липидах сельди и летучих рыб — $16,3$ и $18,9\%$, соответственно.

Таблица 3

Аминокислотный состав белков икры некоторых рыб, г/100 г белка

Аминокислоты	Шкала ФАО/ ВОЗ	Икра														
		осетр	севрюга	стерлядь	бестер	горбуша	нерка	кижуч	навага	сельдь	треска	вобла	щука	сазан	кефаль	летучие рыбы
Валин	3,5	5,56	4,92	4,80	5,15	7,14	7,65	7,02	6,14	4,20	6,34	5,23	3,67	3,30	5,30	6,66
Изолейцин	2,8	5,63	4,84	4,10	4,53	5,89	5,95	5,69	4,98	3,20	5,44	4,22	3,46	3,17	5,30	5,11
Лейцин	6,6	8,98	7,68	9,00	8,91	8,97	8,16	9,76	12,14	6,80	10,27	8,13	7,29	7,82	7,80	8,44
Лизин	5,8	6,80	6,84	8,60	7,82	7,19	7,06	7,78	9,98	6,30	8,24	5,80	6,03	4,34	6,90	7,18
Метионин+ цистин	2,5	2,90	2,60	3,00	3,56	3,00	3,03	2,05	3,06	2,80	2,54	3,77	2,09	5,28	4,10	2,85
Треонин	3,4	5,92	5,64	3,40	4,59	5,12	6,00	6,63	3,59	4,70	4,63	5,05	3,84	4,29	4,40	4,73
Фенилаланин + тирозин	6,3	8,92	7,64	8,00	7,76	9,99	10,84	10,47	9,38	9,80	9,54	6,71	6,15	9,32	10,30	6,75
Триптофан	1,0	—	—	—	—	1,10	1,00	1,00	—	1,60	—	—	—	—	1,50	—
Аланин	—	7,48	5,52	5,90	5,14	6,95	7,59	8,15	5,91	8,70	8,34	6,22	8,24	7,70	6,30	6,79
Аргинин	—	6,18	5,80	8,20	5,19	3,62	4,10	2,63	6,28	4,30	5,20	5,30	3,12	3,31	5,70	5,95
Аспарагиновая кислота	—	9,31	9,44	10,00	9,21	8,02	9,36	8,80	9,51	10,40	8,33	2,92	10,92	1,81	6,60	8,92
Гистидин	—	2,02	2,76	2,60	1,70	1,15	1,34	1,24	2,44	10,30	2,37	2,22	2,68	8,40	2,70	2,44
Глицин	—	3,06	2,96	4,50	3,11	2,12	3,51	2,81	4,93	3,60	3,25	3,60	3,46	3,28	3,20	3,28
Глутаминовая кислота	—	17,40	13,52	14,60	14,16	10,95	11,79	13,40	13,91	12,90	13,60	11,00	13,27	15,09	10,00	12,91
Пролин	—	4,23	2,88	4,50	4,33	3,85	4,48	2,72	6,59	5,70	6,29	5,39	5,59	6,06	10,40	5,51
Серин	—	5,99	7,08	3,70	5,64	5,77	6,67	5,72	1,71	4,70	5,52	5,05	7,02	7,76	5,40	5,54
Сумма незаменимых	—	44,76	40,18	40,70	42,32	47,30	48,69	49,40	49,27	39,30	47,00	48,30	39,41	37,52	49,70	41,72

Примечание: полужирным шрифтом обозначены незаменимые аминокислоты

Фракционный состав липидов икры рыб, % к сумме

Икра рыб	Фосфо- липиды	Моногли- цериды	Диглици- риды	Стерины	Свободные жирные кислоты	Триглице- риды	Эфиры стеринов	Воски	Алкокси- диглицери- ды
Белуга	12,4	—	8,7	8,7	1,5	57,8	7,2	—	3,2
Осетр	12,3	—	5,5	8,7	2,2	61,2	8,1	—	1,6
Северюга	11,2	—	4,0	6,5	1,2	71,4	3,0	—	2,5
Стерлядь	6,9	—	6,1	8,3	4,2	64,5	7,7	—	—
Горбуша	3,2	0,5	0,5	6,0	2,3	87,3	0,2	—	—
Кета	4,9	0,6	0,4	8,4	3,9	81,4	0,2	—	—
Кижуч	2,8	0,8	0,6	4,5	3,3	88,1	0,2	—	—
Нерка	5,8	0,7	0,4	9,1	2,9	81,4	Сл.	—	—
Форель	5,8	0,8	1,7	10,6	3,7	70,6	6,1	—	—
Сельдь	12,4	—	3,4	16,3	31,9	26,8	4,6	4,0	—
Скумбрия	6,0	—	2,4	5,2	13,0	39,3	30,7	—	—
Мойва	6,6	Сл.	5,0	8,0	20,6	53,1	—	5,1	—
Треска	4,9	—	8,9	8,9	12,6	56,9	—	7,5	—
Сазан	5,0	Сл.	7,4	7,7	6,2	65,1	—	8,2	—
Сом	5,0	—	8,4	7,6	13,0	57,6	—	8,1	—
Летучие рыбы	4,5	7,6	5,0	18,9	13,2	50,4	—	—	—

Таблица 5

Основной жирнокислотный состав липидов икры некоторых рыб, % к сумме

Наименование	Икра							
	осетр	горбуша	сельдь	треска	мойва	сом	сазан	летучие рыбы
14:0	0,40	2,94	—	1,93	1,83	0,81	0,59	10,83
15:0	0,29	0,33	0,13	—	0,39	3,30	2,22	0,66
16:0	17,35	10,78	13,65	16,54	22,35	16,42	16,5	19,85
17:0	0,41	0,27	0,18	—	0,37	0,5	0,27	0,16
18:0	1,61	3,38	7,07	3,52	4,68	6,67	5,90	0,83
Σ насыщенных:	20,06	18,04	23,15	21,99	30,39	32,34	29,20	36,39
14:1	—	—	—	0,32	—	—	—	—
16:1	7,03	7,57	0,96	4,35	4,11	2,73	3,60	17,47
18:1	32,36	21,74	30,59	24,68	36,38	38,73	35,62	13,59
20:1	2,60	3,99	1,56	3,01	2,08	0,35	0,38	2,57
Σ мононенасыщенных:	42,99	35,52	37,50	32,51	43,77	41,81	39,6	40,04
16:2	—	0,05	0,26	—	0,23	0,19	0,43	0,29
16:3	—	—	0,30	—	1,55	0,51	0,23	0,64
18:2	2,14	2,30	23,05	32,09	18,59	23,57	28,82	23,05
18:3	0,90	—	0,34	0,15	—	—	—	0,19
18:4	—	0,21	0,82	—	—	0,27	0,54	0,41
20:2	—	2,63	1,02	—	0,91	0,20	—	0,23
20:4	3,73	—	1,40	0,28	0,83	—	—	2,82
20:5	4,59	21,10	2,67	3,47	1,49	—	—	3,16
22:4	0,36	5,47	0,20	—	—	—	—	1,64
22:5	2,53	—	—	0,35	0,66	—	—	0,71
22:6	14,02	13,5	2,02	2,80	—	—	—	0,97
Σ полиненасыщенных:	28,17	46,44	41,32	39,14	25,85	25,85	31,2	23,56
Σ эссенциальных:	3,56	2,3	24,79	32,52	19,42	23,57	28,82	3,8

В икре осетровых и лососевых рыб отмечено низкое содержание свободных жирных кислот — менее 5%, в то время как в липидах других рыб оно составляет около 13%, а в липидах икры мойвы и сельди достигает 20 и 32%, соответственно.

В широких пределах варьирует и содержание эфиров стерина. В липидах икры таких рыб, как мойва, треска, сазан, сом и летучие рыбы, фракция эфиров стерина не обнаружена; в липидах лососевых рыб она составляет доли процента, а в липидах осетровых рыб колеблется от 3,0 до 8,1%. В то же время в липидах скумбрии ее обнаружено около 31%.

Следует отметить, что в икре осетровых и лососевых рыб не обнаружено восков, которые составляют довольно высокий процент (4,0–8,2) в липидах икры сельди, мойвы, трески, сазана, сома, а в липидах некоторых рыб, в частности кефали и большоголова атлантического, воски представляют доминирующую фракцию (в таблице 4 данные не приведены).

Пищевая ценность липидов икры определяется не только фракционным составом триглицеридов и фосфолипидов, но и жирнокислотным составом, содержащим биологически активные полиненасыщенные жирные кислоты омега-3 и омега-6 ряда [4, 5, 18, 25, 27].

Липиды икры рыб представлены насыщенными, мононенасыщенными и полиненасыщенными жирными кислотами (табл. 5).

Результаты исследований жирнокислотного состава липидов икры рыб свидетельствуют о том, что наибольшее содержание насыщенных жирных кислот —

29,20–36,39% — обнаружено в липидах икры сазана, мойвы, сома, летучих рыб; в липидах икры осетра, трески, сельди оно составляет 20,06–23,15%; наименьшее содержание — 18,04% — в икре горбуши.

Мононенасыщенные жирные кислоты липидов икры рыб представлены в основном олеиновой кислотой: доля их составляет от 35,52 до 40,04% в икре горбуши, сельди, сазана и летучих рыб, а в икре сома, осетра и мойвы — от 41,81 до 43,77%; наименьшее содержание отмечено в икре трески — 32,51%.

Приведенные в таблице 5 данные свидетельствуют о том, что самое высокое содержание полиненасыщенных жирных кислот найдено в липидах икры горбуши — 46,44%, в то время как в икре осетра содержится 28,17%. При сопоставимом содержании линолевой и докозагексаеновой кислот в липидах осетра и горбуши доля эйкозапентаеновой кислоты в липидах горбуши значительно выше.

Пробойная икра сельди, трески, сазана характеризуется довольно высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот, которое варьирует от 30 до 41% (в основном за счет высокой доли эссенциальных). Довольно высокое содержание полиненасыщенных жирных кислот найдено в липидах икры летучих рыб — около 23%.

Представленные в таблице 6 данные показывают, что икра рыб содержит от 60 до 90 мг% калия, от 1620 до 2284 мг% натрия, 230–594 мг% фосфора, 35–141 мг% магния, 1,5–3,4 мг% железа и является богатым источником минеральных веществ [29].

Таблица 6

Суточная потребность для детей и содержание макроэлементов и железа в икре рыб, мг% в 100 г продукта

Икра	Содержание, мг%					
	Na	K	Ca	Mg	P	Fe
Суточная норма для детей	200–1300	400–2500	400–1200	55–400	300–1200	4–18
Горбуша	2245	85	75	141	426	2,0
Кета	2284	90	90	129	490	1,8
Осетр	1620	75	50	37	594	3,4
Севрюга	1699	80	60	45	470	2,5
Минтай	2206	60	35	35	230	1,5

Суточная потребность витаминов для детей и их содержание в икре морских и пресноводных рыб, мг% [21]

Икра	А	Д	Е*	В ₁	В ₂	РР	С
Суточная норма для детей	0,40–0,45	0,0025–0,01	3–4	0,3–0,8	0,4–0,9	5–20	30–90
Белуга	1,34	0,50	1,16	0,42	0,40	0,4–0,90	–
Осетр	0,98–1,34	0,09–0,13	7,26–8,27	0,30	0,36	1,50	1,70
Северюга	1,0	0,10	0,03	0,28	0,37	1,50	2,00
Стерлядь	0,73	0,09	7,59	–	–	–	–
Горбуша	1,26	0,57	2,81	0,50	0,40	1,40	2,50
Кета	1,24	0,19–0,32	3,87	0,55	0,11	–	2,00
Нерка	0,89	0,19	2,08	–	–	–	–
Минтай	0,4	0,13	0,07	0,67	0,22	0,70	2,00
Сельдь	0,11–0,36	–	0,11–3,64	–	–	–	–
Сиговые	–	–	–	0,32	0,41	0,80	–
Треска	–	–	–	0,28	0,48	0,60	–
Сазан	–	–	–	0,39	0,70	0,50	–
Щука	–	–	–	0,43	0,79	0,40	–

Примечание: * мг эквивалента токоферола, соответствует 1 мг альфа-токоферола

Пищевую ценность икры определяют и витамины, регулирующие обмен веществ и активно влияющие на иммунную систему организма.

Данные, приведенные в таблице 7, свидетельствуют о том, что икра рыб содержит витамин А в количестве 0,4–0,45 мкг%, РР – от 0,4 до 1,5 мг%, С – от 1,7 до 2,5 мг%, витамины В₁ и В₂ – до 1 мг% [29]. На наш взгляд, разброс данных может быть связан с использованием различных методов в разные годы.

Заключение

Таким образом, приведенные в статье сведения о полезных качествах икры рыб, включающих в себя сумму таких показателей, как содержание белка, жира, витаминов, минеральный состав, энергетическая ценность, а также аминокислотный состав белков и жирнокислотный состав липидов, свидетельствуют о ее высокой пищевой ценности.

Несомненно, икра осетровых и лососевых превосходит икру других как морских, так и пресноводных рыб по совокупности перечисленных выше показателей. Высокая энергетическая ценность икры осетровых и лососевых определяется высоким содержанием белка и жира. Результаты исследований и данные литературы показывают, что икра морских и пресноводных рыб является высокобелковым продуктом, аминокислотный скор которого превосходит скор «идеального» белка, богатым источником минеральных веществ, витаминов, содержит низкое содержание жира с высокой долей биологически активных полиненасыщенных жирных кислот.

Икру морских и пресноводных рыб можно отнести к диетическим продуктам, употребление которых существенным образом может восполнить суточную потребность детского организма в необходимых нутриентах.

Литература

1. Алимов В. Работа Всесоюзного научно-исследовательского института рыбной промышленности // Рыбное хозяйство. – 1933. – № 2. – С. 8.
2. Аман М.Э.Б., Мохаммед М.С. Консервирование египетской икры // Рыбное хозяйство. – 1977. – № 2. – С. 74–75.
3. Андреев М.П. Время для экспериментов // Fishnews. – 2011. – № 2(23). – С. 51.
4. Ахмерова Е.А., Хамзина А.К. Биологическая ценность липидов икры некоторых видов рыб / VI Московский международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития». – М, 2011. – С. 160–161.
5. Ахмерова Е.А., Копыленко Л.Р. Биологическая ценность икры летучих рыб / Материалы XIII Всероссийского конгресса диетологов и нутрициологов с международным участием «Персонализированная диетология: настоящее и будущее». – М., 2011. – С. 9.
6. Байдалинова Л.С., Яржомбек А.А. Биохимия сырья водного происхождения. – М.: Моркнига. 2011. – С. 472–473.
7. Зайцев В.П., Кизеветтер И.В. и др. Технология рыбных продуктов. – М.: Пищевая промышленность, 1965. – С. 283.
8. Захарова Л.А. Приготовление пробойной соленой икры гладкоголова // Рыбное хозяйство. – 1978. – № 1. – С. 60–61.

9. Зонн И.С. Черный жемчуг Каспия. — М.: Информполиграф, 2005. — С. 215.
10. Изобретения российских специалистов // Рыбпром. — 2009. — № 1. — С. 30–31.
11. Калининченко Т.П. и др. Особенности химического состава икры макруруса и возможность производства из нее деликатесной продукции // Известия ТИНРО. — 2007. — Т. 149. — С. 401.
12. Кизеветтер И.В. Технология лососевой и частиковой соленой икры. — М.: Пищепромиздат, 1948. — С. 92–103.
13. Копыленко Л.Р. Научное обоснование и разработка технологии консервирования икры осетровых и лососевых рыб: дисс. ... доктора технических наук. — М., 2006. — 492 с.
14. Кривенко П.Ф. Производство лобаньей и кефалевой икры // Рыбхоз. — 1949. — № 1. — С. 15–17.
15. Куликов А.Н. и др. Соленая икра частиковых рыб в тубиках // Рыбное хозяйство. — 1972. — № 5. — С. 69–71.
16. Лазаревский А.А. Приготовление икры. — М.: Пищепромиздат, 1946. — С. 92–103.
17. Минеев А.Ф., Герасимов Г.В. Как готовить икру из частиковых рыб. — Астра.: Издание Астраханского науч.-иссл. инс. рыбной промышленности, 1935. — С. 5.
18. Нечаев А.П. и др. Пищевая химия. Изд. 3-е, испр. — СПб.: ГИОРД, 2004. — С. 41.
19. Никитина И.Н. Икра макруруса малоглазого // Рыбное хозяйство. — 1986. — № 9. — С. 66–68.
20. Никитина И.Н., Леванидов И.П. Технологические свойства мороженой икры лемонемы // Рыбное хозяйство. — 1978. — № 4. — С. 74–75.
21. Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации. Методические рекомендации (МР 2.3.1.2432-08).
22. Олейниченко Е.Ф. Обработка икры нототении // Рыбхоз. — 1970. — № 5. — С. 59–60.
23. Подушка С.Б. Получение икорной продукции от неосетровых видов рыб в условиях аквакультуры. — СПб.: Научно-технический бюллетень лаборатории ИНЭНКО, 2008. — Вып. 14. — С. 5–13.
24. Радакова Т.Н. Икра и икорные продукты на мировом рынке // Рыбпром. — 2009. — № 1. — С. 6–7.
25. Ржавская Ф.М. Жиры рыб и млекопитающих. — М.: Пищевая промышленность, 1976. — С. 33–61.
26. Рубцова Т.Е. Обоснование и разработка технологии пастеризованной икры лососевых рыб. Дисс. ... канд. техн. наук. — М., 2004. — 161 с.
27. Сборник информационных сведений о пищевой ценности продуктов из гидробионтов. — М.: ВНИРО, 2005. — С. 96.
28. Сборник химического состава российских продуктов питания. — М.: ДеЛи принт, 2002. — С. 98–99.
29. Семенова А.Е. Об использовании икры камбалы // Рыбхоз. — 1956. — № 12. — С. 35–37.
30. Соин С.Г. Приспособительные особенности развития рыб. — М.: МГУ, 1968. — С. 89.
31. Тишин В.Е. Пищевая ценность икры тресковых рыб / Сборник науч.-тех. информации ВНИРО. — 1966. — Вып. 2. — С. 79–84.
32. Ушакова Р.Ф., Данилюк Т.Г. Усовершенствование способа обработки икры щуки. Технология и механизация обработки рыбы и нерыбных объектов. — М.: Отдел науч.-тех. информации, 1972. — С. 55–56.
33. Akhmerova E., Kopylenko L. Quality and safety of flying fish caviar / In: Collected scientific papers of the First International seminar and PhD workshop. — Petrozavodsk: Karelian Research Centre RAS, 2010. — P. 8–9.
34. Iwasaki M. and Harada R. Proximate and amino acid composition of the roe and muscle of selected marine species // J. Food Science. — 1985. — Vol. 50(6). — P. 1585–1587.
35. Love R. Malcolm. The Chemical Biology of Fishes. — 1980. — Vol. 2. — P. 36–42.
36. Passy C. Caviar on the Cheap // Wall Street Journal. — 2001 February 23. — p. W1, 12.
37. Stein W.H., Moore S. The free amino acids of human blood plasma // J. Biol. Chem. — 1954. — Vol. 211. — P. 915–928.
38. Sternin V., Dore I. Caviar. The resource book. — Moscow: Cultura, 1993. — P. 83–85.

NUTRITIONAL VALUE OF FISH EGGS

E.A. AKHMEROVA, L.R. KOPYLENKO, T.E. RUBTSOVA

All-Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow

Due to the ban on sturgeon fishing, high price of caviar fish grown in aquaculture, as well as a fairly high price of salmon caviar relevant is the increasing use of consumers affordable eggs of other fish species. The comparative assessment of nutritional value of eggs of marine and freshwater fish was presented. Availability of the data on the nutritional value of eggs of different species of fish will use them in the design of the prescription food, balanced amino acid composition of proteins and lipids and fatty acid composition to children.

Keywords: fish eggs, chemical composition, nutritional value.

ЦИАНОБАКТЕРИИ АРИДНОЙ ЗОНЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В АГРОТЕХНОЛОГИЯХ

Ю.В. БАТАЕВА*

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Астраханский государственный технический университет», Астрахань

Рассматривается возможность использования в агротехнологиях цианобактерий аридной зоны. В результате проведенных экспериментов отобрано несколько сообществ цианобактерий, обладающих наиболее активными ростстимулирующими и фунгицидными свойствами, которые можно использовать для дальнейших разработок в агробиотехнологиях.

Ключевые слова: цианобактерии, аридная зона, агробиотехнологии.

В настоящее время в агропромышленном комплексе отдается предпочтение химическим препаратам, которые отрицательно влияют на плодородие почв, окружающую среду, качество продукции. Биологической альтернативой различного рода химическим удобрениям и пестицидам является микробная составляющая почв. Почвенные микроорганизмы образуют многочисленные физиологически активные вещества, которые поступают в корни растений и стимулируют их рост, повышая качество урожая, а также антифунгальные антибиотики, подавляющие развитие фитопатогенов. Различного рода микроорганизмы можно интродуцировать в агроэкосистему, в том числе микробные препараты сложного состава.

Особое место в почвенных ценозах занимают водоросли и цианобактерии. Цианобактерии, в отличие от почвенных водорослей, фиксируют из атмосферы не только углерод, но и молекулярный азот, продуцируют биологически активные вещества и образуют первичную продукцию органического вещества, предотвращают ветровую эрозию, склеивая частички почвы и уменьшая скорость испарения воды с ее поверхности. Особенно важен этот процесс для песчаных поверхностей, а также

для слабогумифицированных почв, чем и отличаются почвы Астраханской области.

В природных условиях цианобактерии всегда развиваются в ассоциациях с множеством других организмов благодаря слизистым чехлам и, вследствие этого, обладают прекрасными адаптационными возможностями и устойчивостью к резко изменяющимся физико-химическим условиям среды. Это создает предпосылки для более эффективного приспособления цианобактериальных сообществ при их интродуцировании в почву. Материалы о роли цианобактерий в создании почвенного плодородия убеждают в необходимости вовлечения этих организмов почвы в сферу сельскохозяйственного использования.

Преимуществом препаратов на основе цианобактерий является отсутствие специфичности в ряду культурных растений, неприхотливость в хранении, экономичность при культивировании (выращивание на минеральных жидких средах), мало затрат на обработку площадей, что позволяет сокращать нормы расхода фосфорных удобрений. Обладая быстрыми скоростями роста, цианобактерии за 20 дней накапливают до 15 т биомассы на 1 га.

В связи с особенностями расположения и аридным климатом Астраханского региона почвы здесь представляют собой своеобразные природные экосистемы с высокими концентрациями солей и недостатком влаги. При этом создаются экстремальные условия для существования живых организмов, в том числе сельскохозяйственных растений. На указанной территории развиваются специфические цианобактериальные сообщества, обладающие устойчивостью к высоким температурам,

© 2012 г. Батаева Ю.В.

* **Автор для переписки:**

Батаева Юлия Викторовна

кандидат биологических наук, доцент,

кафедра прикладной биологии и микробиологии

ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный технический университет»

414025 Астрахань, ул. Татищева, 16

E-mail: aveatab@mail.ru

повышенной солености, интенсивности света, высушиванию, ультрафиолетовому облучению и т.д.

С помощью метода накопительных культур на основе отобранных на территории Астраханского региона почвенных образцов выделены цианобактериальные сообщества. Доминирующей формой структурообразователей изучаемых сообществ явились цианобактерии родов *Phormidium*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Oscillatoria*.

В лабораторных и вегетационных опытах проведены исследования по влиянию 25 выделенных сообществ на рост растений. Нетоксичными для семян кресс-салата (семейство крестоцветные) и пырея бескорневищного (семейство злаковые) оказались 24 из 25 исследуемых цианобактериальных сообществ. Рост и развитие проростков картофеля стимулировали 5 сообществ. Прорас-

тание семян моркови и лука стимулировали 2 сообщества. Значительную ростстимулирующую активность проявляли 4 сообщества цианобактерий в отношении всех опытных растений.

Также исследовали влияние цианобактерий на фитопатогенные грибы родов *Fusarium* и *Alternaria*.

В результате проведенных экспериментов отобрано несколько сообществ цианобактерий, обладающих наиболее активными ростстимулирующими и фунгицидными свойствами, которые можно использовать для дальнейших разработок в агробиотехнологиях.

Материалы Международной конференции «Биология – наука XXI века» (Москва, 24 мая 2012 г.).

CYANOBACTERIA OF THE ARID ZONE AND THEIR USE IN AGRICULTURAL TECHNOLOGIES

Yu.V. BATAEVA

Astrakhan State Technical University, Astrakhan

The possibility of use of agricultural technologies cyanobacteria of the arid zone was considered. The experiments selected few communities of cyanobacteria, with the most active growth promoting and fungicidal properties that can be used for further developments in agricultural biotechnology.

Keywords: cyanobacteria, arid zone, agricultural biotechnology.

УДК 573.6.086.83

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ХИЩНЫХ ГРИБОВ-ГИФОМИЦЕТОВ В ПРОИЗВОДСТВЕ ПРОТИВОПАРАЗИТАРНЫХ И ПРОТИВОВИРУСНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Г.Г. АНАНЬКО*, Ж.Б. ИБРАГИМОВА, Н.А. МАЗУРКОВА, Т.В. ТЕПЛЯКОВА

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Новосибирская область

В работе ставилась задача получения биомассы нематофаговых грибов в условиях погруженной ферментации с помощью вихревого реактора «БИОК» (ЗАО «Саяны», Новосибирск) объемом 5 л и изучения биологической активности мицелия и экстрактов из него в отношении паразитических нематод животных и некоторых вирусов, патогенных для человека. Представлены данные, которые говорят о перспективности получения противопаразитарных и противовирусных препаратов на основе активных штаммов нематофаговых грибов.

Ключевые слова: гифомицеты, противопаразитарные и противовирусные препараты, разработка.

Хищные грибы-гифомицеты выделяют широкий спектр биологически активных веществ — ферментов, аттрактантов, токсинов, участвующих в процессах жизнедеятельности нематофагов, в том числе в механизме хищничества при формировании ловушек на мицелии (Раджабова А.А., 1971; Беккер З.Э., 1972; Теплякова Т.В., 1999). Данные грибы изучались нами с целью разработки биопрепаратов для защиты растений и животных от паразитических нематод. На два штамма, проявляющие высокий нематофаговый эффект, имеются патенты: *Arthrobotrys oligospora* ВКМ F-3062 (а.с. СССР 1688818, 1991) и *Duddingtonia flagrans* F-882 (патент РФ 2253671, 2005).

Задачами данного исследования были: наработка биомассы нематофаговых грибов в условиях погруженной ферментации с помощью вихревого реактора «БИОК» (ЗАО «Саяны», Новосибирск) объемом 5 л; изучение биологической активности мицелия и экстрактов из него в отношении паразитических нематод животных и некоторых вирусов, патогенных для человека.

В ходе проведенных исследований были получены следующие результаты. Оптимальная доза для засева качалочных колб с пробирок с целью получения жидкого

инокулюма для засева биореактора составляет 4 мл на 100 мл среды (1,25) с титром грибных пропагул в $1 \text{ мл } 5 \times 10^4$. Полученный на качалке в течение двух суток инокулюм начинает расти в биореакторе практически сразу и за 1 сутки концентрация биомассы увеличивается в 11 раз. Ускорению процесса роста культуры за счет сокращения лаг-фазы способствует высокое содержание относительно молодого мицелия в инокулюме, а также использование одинаковой по составу питательной среды на основе мелассы и кукурузного экстракта для выращивания культуры в колбах и в биореакторе. Содержание биомассы по сухому веществу у грибов *Duddingtonia flagrans* и *Arthrobotrys oligospora* за 4 суток роста в биореакторе достигало значения 12–18 г/л.

При изучении микроморфологии мицелия в динамике установлено, что о готовности биомассы *Duddingtonia flagrans* свидетельствует формирование к третьим суткам роста в биореакторе многочисленных спиралевидных гиф, отмеченных ранее в условиях качалочной культуры. У гриба *Arthrobotrys oligospora* в этот же период отмечались на гифах спонтанно формирующиеся петли и кольца, характерные для данного штамма.

Эксперименты, проведенные *in vitro* на гелиминтах рода *Syphacia*, выделенных из слепого отдела кишечника лабораторных мышей, показали, что уже на 2–3-е сутки мицелий исследуемых штаммов пронизывает тела нематод и разрастается внутри них. При этом многочисленные яйца самок изменяют свою первоначальную структуру, что, вероятно, связано с

© 2012 г. Ананько Г.Г., Ибрагимова Ж.Б., Мазуркова Н.А., Теплякова Т.В.

* Автор для переписки:

Ананько Григорий Григорьевич

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»

630559 Новосибирская область, Новосибирский район,

р.п. Кольцово

воздействием на них токсических соединений грибов. Позднее было подтверждено электронно-микроскопическими исследованиями, что под влиянием биологически активных соединений хищных грибов нарушается структура клеток всех органов и тканей гельминтов мышей (Теплякова Т.В. и др., 2005).

Водные экстракты, полученные нами из биомассы хищных грибов, были протестированы на переносимых клеточных культурах MDCK и Vero, а также на лабораторных мышах в отношении ряда патогенных для человека вирусов. В результате исследований было найдено, что все исследуемые образцы были нетоксичными или малотоксичными для клеточных культур MDCK и Vero.

Образцы на основе мицелия *Arthrobotrys oligospora* подавляли репликацию вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/05/2005 (H5N1) на клетках MDCK; индекс нейтрализации составил от 2,5–4,1 lg, в отношении вируса гриппа человека A/Aichi/2/68 (H3N2) — 3,7–4,4 lg.

Образцы на основе *Duddingtonia flagrans* подавляли вирус гриппа птиц на 3,6–4,9 lg, а гриппа человека — на 4,2–5,4 lg. Нейтрализация вируса осповакцины в культуре клеток Vero составила для образцов на основе гриба *Arthrobotrys oligospora* от 0,2 до 2,2 lg, а для образцов на основе гриба *Duddingtonia flagrans* — от 1,7 до 2,2 lg.

В экспериментах *in vivo* при определении противовирусной активности грибных экстрактов на основе биомассы хищного гриба *Duddingtonia flagrans* продемонстрирован выраженный защитный эффект в отношении вируса гриппа человека A/Aichi/2/68 (H3N2) и вируса экстремелии К-1 (оспы мышей).

Полученные данные свидетельствуют о перспективах получения противопаразитарных и противовирусных препаратов на основе активных штаммов нематофаговых грибов.

Материалы Международной конференции «Биология — наука XXI века» (Москва, 24 мая 2012 г.).

PROSPECTS FOR THE USE OF PREDACIOUS FUNGI HYPHOMYCETES IN THE PRODUCTION OF ANTIPARASITIC AND ANTIVIRAL DRUGS

G.G. ANANKO, J.B. IBRAGIMOV, N.A. MAZURKOVA, T.V. TEPLYAKOVA

State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», settlement Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia

The work task was to produce biomass nematophagous fungi in submerged fermentation using a vortex reactor «BIOK» (JSC «Sayan», Novosibirsk) 5 l, and the study of the biological activity of mycelia and extracts from it in respect of animal parasitic nematodes and certain viruses, pathogenic to humans. The data that say about the prospects of obtaining an antiparasitic and antiviral drugs on the basis of active strains of nematophagous fungi were presented.

Keywords: Hyphomycetes, antiparasitic and antiviral drugs, development.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ РАСТЕНИЙ, УСТОЙЧИВЫХ К ЗАБОЛЕВАНИЯМ

Н.С. ЗАХАРЧЕНКО*, Е.Б. РУКАВЦОВА¹, Е.В. ЛОКТЮШОВ^{1,2}

¹ Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН,

² Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино Московской области

Предложен метод повышения устойчивости растений к болезням, вызываемым фитопатогенными микроорганизмами, с помощью использования генов антимикробных пептидов для трансформации растений. Полученные векторные конструкции с синтетическими генами *secP1* и *bom* можно в дальнейшем применять для исследования эффектов этих генов в различных трансформированных растениях и при получении растений-продуцентов пептидов для медицины.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, устойчивые к заболеваниям растения, генетическая трансформация.

Антимикробные пептиды являются интегральной частью врожденной иммунной системы всех многоклеточных организмов и обладают широким спектром бактерицидной и фунгицидной активности. Интервал их начального действия находится в концентрации 0,1–5 мкМ. Пептиды проявляют литическую активность против различных микроорганизмов, но не по отношению к клеткам животных и растений; поэтому использование антимикробных пептидов для трансформации растений — перспективный метод повышения устойчивости растений к фитопатогенам.

Целью работы было проведение генетической трансформации томата, картофеля и табака генами антимикробных пептидов: цекропина P1 (*secP1*) (31 а.к.) и бомбинина (*bom*) (27 а.к.). Трансформацию картофеля проводили с помощью агробактерий *Agrobacterium tumefaciens* GV3101 (pMP90PK), содержащих вектор pGA482::sec P1. Трансформацию табака осуществляли с помощью агробактерий *A. tumefaciens* CBE21, содержащих вектор pBI121 с геном бомбинина, слитого с репортерным геном β -глюкуронидазы. Для трансформации томата использовали агробактерии *A. tumefaciens* GV3101 с безмаркерным вектором pBM::secP1.

В работе использовали следующие сорта растений: томат — сорт «Джина», картофель — сорт «Дезире»,

табак — сорт «Самсун». Трансформацию растений проводили двумя методами: вакуумной агроинfiltrации семян и кокультивацией листовых экплантов с агробактериями.

Для метода вакуумной агроинfiltrации стерильные семена томата в жидкой культуре агробактерий (О.П.₆₀₀=0,7) выдерживали в условиях вакуума -0,8 Атм 5 мин. Затем семена перекладывали на твердую среду Мурасиге — Скуга. Отбор безмаркерных растений, не содержащих в своем геноме маркерных и селективных генов, проводился по детекции целевого продукта — пептида цекропина P1. Для этого проводили вестерн-блот анализ образцов, состоящих из растительного материала нескольких групп растений. При наличии положительного сигнала в исследуемых группах проводили анализ индивидуальных растений. Эффективность трансформации методом агроинfiltrации составила 20%.

Следовательно, были получены трансгенные растения томата, не содержащие в своем геноме селективных и маркерных генов, которые обычно используются для получения трансгенных растений и становятся ненужными растению после селективного отбора. Этот метод важен для получения современных биобезопасных биотехнических растений.

Трансформацию картофеля и табака проводили методом кокультивации листовых дисков с агробактериями. Отбор трансформантов при использовании маркерного вектора проводили на селективной среде, содержащей антибиотик канамицин (50 мг/л). Наличие и экспрессия гена цекропина P1 и бомбинина в полученных растениях картофеля и табака были показаны молекулярно-гене-

тическими методами: ПЦР с использованием праймеров к генам цекропину P1 и бомбинину, вестерн-блот анализом с использованием специфических антител, а также методами саузерн и нозерн-блот анализов. Уровень экспрессии антимикробных пептидов в растениях составлял 0,002–0,03% от общего содержания белка листьев. Экстракты из трансгенных растений проявляли повышенную антибактериальную активность по отношению к патогену *Erwinia carotovora*. Заражение растений бактериальными и грибными фитопатогенами — *Pseudomonas syringae*, *Erwinia carotovora*, *Phytophthora infestans*, *Sclerotinia sclerotiorum* показало повышенную устойчивость трансгенных растений по сравнению с контрольными (нетрансформированными).

Таким образом, использование генов антимикробных пептидов для трансформации растений может быть надежным методом повышения устойчивости растений к болезням, вызываемым фитопатогенными микроорганизмами. Полученные векторные конструкции с синтетическими генами *cecP1* и *bom* можно в дальнейшем использовать для исследования эффектов этих генов в различных трансформированных растениях и при получении растений-продуцентов пептидов для медицины.

Работа поддержана грантами РФФИ № 11-08-00413 и № 12-08-00131.

Материалы Международной конференции «Биология — наука XXI века» (Москва, 24 мая 2012 г.).

THE USE OF ANTIMICROBIAL PEPTIDES FOR OBTAINING PLANTS RESISTANT TO DISEASES

N.S. ZAHARCHENKO¹, E.B. RUKAVTSOVA¹, E.V. LOKTYUSHOV^{1,2}

¹ Branch of Federal State Institution of Science «Academicians M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry» RAS

² Pushchino State Institute of Natural Sciences, Pushchino, Moscow Region, Russia

A method of increasing plant resistance to diseases caused by phytopathogenic microorganisms, through the use of antimicrobial peptides genes for plant transformation. The resulting vector constructs with synthetic genes *cecP1* and *bom* can be further applied to study the effects of these genes in a variety of transformed plants and obtaining plants producing peptides for medicine.

Keywords: antimicrobial peptides, disease-resistant plants, genetic transformation.

ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ НОВЫХ БИОПРОДУКТОВ ИЗ ЧЕШУИ И ГОЛОВ РЫБ НА ЖЕЛАТИНОВОЙ ОСНОВЕ

М.В. МАТКОВСКАЯ, О.Я. МЕЗЕНОВА*

Калининградский государственный технический университет, Калининград

Предложена технология получения биопродуктов остеотропного и хондропротекторного действия из вторичного сырья гидробионтов (голов салаки и чешуи сардины) на желатиновой основе.

Ключевые слова: морская биотехнология, рыбные биопродукты.

Целью работы являлось создание технологии получения биопродуктов остеотропного и хондропротекторного действия из вторичного сырья гидробионтов (голов салаки и чешуи сардины) на желатиновой основе, которые обладали бы высокими органолептическими свойствами.

За основу технологии были взяты принципы максимального сохранения биопотенциала рыбных чешуи и голов, которые сегодня не используются в пищевых целях. Данные отходы в больших количествах накапливаются на рыбоперерабатывающих предприятиях Калининградской области, прежде всего, на консервных заводах. Установлено, что в чешуе и головах рыб содержится большое количество биологически активных веществ, полезных при заболеваниях опорно-двигательного аппарата, причем в сбалансированном для человека соотношении.

Разработанная технология включает в себя размораживание предварительно замороженных отходов, их мойку, стекание воды, грубое измельчение, тепловую обработку (варка в кипящей воде 20–40 минут), удаление излишней влаги (стечка в течение 15 минут), охлаждение, сушку при мягких условиях (при температуре не выше 60–70 °С), тонкое измельчение высушенной массы, ее внесение при перемешивании в теплую желатиновую основу на фитоотваре, формование, охлаждение, хранение.

Полученные продукты получили названия «Биошуппе» и «Биокопф».

Экспериментальное определение химического состава измельченных высушенных рыбных полуфабрикатов, вносимых в желатиновую основу, показало, что они являются, прежде всего, источником белковых и минеральных веществ (кальция и фосфора).

При выборе фитокомпонентов, вносимых в желатиновую основу в виде отваров, исходили из необходимости усиления профилактического эффекта, компенсации рыбного запаха и облагораживания вкусо-ароматических свойств готовых биопродуктов. Были изготовлены отвары двух видов: 1 – из череды трехраздельной, шалфея лекарственного и мяты перечной (для биопродукта «Биошуппжеле»); 2 – из череды и шалфея (для биопродукта «Биокопфжеле»). В первом случае в качестве корригентов вводились корица и сахар, а во втором случае вводились лимонный сок и специи: соль, сушеные петрушка и базилик. Анализ качества фитоотваров показал, что они обладают приятным ароматом, а также являются богатым источником флавоноидов, дубильных веществ, рутина и аскорбиновой кислоты, полезных при заболеваниях опорно-двигательного аппарата.

На основе пищевой добавки «Биошуппе» была разработана рецептура сладких мармеладов «Биошуппжеле», а с применением добавки «Биокопф» – желатиновый закусочный продукт «Биокопфжеле». Путем математического планирования эксперимента были получены модели технологических процессов, обоснованы дозировки сушеных добавок и фитокомпонентов в составе новых желатиновых биопродуктов: количество добавок и фитокомпонентов соответственно в биопродукте «Биошуппжеле» – 2,73 и 3,04 г на 100 г готовых изделий; в биопродукте «Биокопфжеле» – соответственно 0,88 и 1,15 г.

© 2012 г. Матковская М.В., Мезенова О.Я.

* **Автор для переписки:**

Мезенова Ольга Яковлевна

доктор технических наук, профессор,

зав. кафедрой Калининградского государственного технического университета

236029 Калининград, ул. профессора Баранова, 43

Тел.: +7 (4012) 46-35-69

E-mail: mezenova@klgtu.ru

Изготовленные по оптимизированным рецептурам желатиновые биопродукты были органолептически (в терминах) и методом профилограмм оценены по показателям вкуса, запаха, цвета, консистенции, форме и состоянию поверхности. Анализировали интенсивность проявления следующих оттенков вкуса: сладкий, травяной, рыбный, приятный, резкий, отталкивающий, легкий, терпкий, сбалансированный, нежный, пряный, соленый. Оценка химического состава желатиновых биодобавок показала, что последние являются функциональными по содержанию белка, кальция, фосфора, аскорбиновой кислоты и других минорных компонентов растений. На основании количественного содержания данных веществ

и с учетом их суточных норм разработаны рекомендации потребления новых биопродуктов. Они рекомендованы людям, страдающим заболеваниями опорно-двигательного аппарата, а также детям, пожилым людям, спортсменам и работникам тяжелого физического труда, испытывающим повышенные физические нагрузки в ходе спортивных занятий или в своей профессиональной деятельности. При этом разработана соответствующая проектная документация на сырье, пищевые добавки и биопродукты.

Материалы Международной конференции «Биология — наука XXI века» (Москва, 24 мая 2012 г.).

BIOTECH NEW BIOPRODUCTS OF SCALES AND FISH HEADS ON A GELATIN BASE

M.V. MATKOVSKAYA, O.Ya. MEZENOVA

Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad

Proposed technology for production of bioproducts with osteotropic and chondroprotective effect from raw materials of hydrobionts (sprat — *Clupea sprattus* — heads and sardine scales) on a gelatin base.

Keywords: marine biotechnology, fish bioproducts.

ЭКСПРЕССИЯ И ОЧИСТКА МОНОМЕРА РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РОСТА-БЕТА1 (TGF- β 1) ЧЕЛОВЕКА В КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA COLI*

Я.В. КИМ*, М.Э. ГАСПАРЯН

ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»
РАН, Москва

Авторами разработаны методики, которые позволили получить высокоочищенный и активный препарат мономерного белка TGF- β 1/C77S с выходом около 10 мг с 1 литра культуры клеток. Высокий выход и относительная дешевизна полученного рекомбинантного белка TGF- β 1/C77S дает возможность использовать препарат в преclinical и клинических исследованиях для лечения ряда фибропролиферативных нарушений и опухолевых заболеваний, где нерегулируемая экспрессия TGF- β играет ключевую роль.

Ключевые слова: трансформирующий фактор роста-бета1 (TGF- β 1) человека, мономер рекомбинантного белка, *Escherichia coli*.

Трансформирующий фактор роста бета (TGF- β) относится к большому семейству структурно и функционально связанных между собой белков, которые участвуют в регуляции широкого спектра клеточных процессов, включая пролиферацию, дифференциацию и апоптоз. Нарушения уровня продукции TGF- β клетками может вызывать многочисленные патологии, включая атеросклероз и фиброзные заболевания почек, печени и легких. Изоформы лиганда TGF- β играют двойную роль в процессе канцерогенеза, выступая в качестве супрессора опухолевого роста на ранних стадиях развития рака. На поздних стадиях раковые клетки приобретают резистентность к его ингибирующему эффекту. Большинство злокачественных опухолей, включая меланому и рак молочной железы, толстой кишки, пищевода, желудка, печени, легких, поджелудочной железы и простаты, характеризуется повышенной продукцией TGF- β , который способствует росту опухоли, индуцирует ангиогенез и опосредует эпителиально-мезенхимальный переход. Существует множество стратегий, которые используются для нейтрализации суперэкспрессированного TGF- β в

окружении метастазирующих опухолей. К ним относятся ингибирование киназной активности рецепторов к TGF- β , нарушение передачи сигнала внутриклеточными медиаторами — белками SMAD, подавление экспрессии и секреции TGF- β клетками.

Одной из успешных стратегий нарушения сигнальных путей TGF- β является блокирование сайтов связывания рецептора II типа с лигандом с помощью молекул-антагонистов. Ранее было показано, что мономерная молекула TGF- β так же эффективно связывается с рецептором II типа T β RII, как и природный димер. Однако биологическая активность мономера более чем на два порядка хуже по сравнению с димером TGF- β . Следовательно, препараты мономеров TGF- β могут быть применены при терапии метастазирующих опухолей для нейтрализации сигнальных путей, запускаемых природными димерными молекулами TGF- β .

Для белков семейства TGF- β характерно наличие 9 консервативных остатков цистеина, которые образуют 4 внутримолекулярных дисульфидных связи и одну межмолекулярную связь, участвующую в образовании димера. В данной работе были разработаны методы экспрессии и очистки рекомбинантного белка TGF- β 1, в котором аминокислотный остаток цистеина Cys77, участвующий в образовании межмолекулярной дисульфидной связи, был заменен на серин (Ser). Последовательность ДНК, кодирующая TGF- β 1 человека, была синтезирована из 20 перекрывающихся олигонуклеотидов с помощью полимеразной цепной реакции.

© 2012 г. Ким Я.В., Гаспарян М.Э.

* **Автор для переписки:**

Ким Яна Валерьевна

аспирант лаборатория биоинженерии белка Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

117997 Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

E-mail: yana.kim87@gmail.com

Синтетический ген TGF- β 1 был клонирован в плазмиду рЕТ-32а вслед за геном слитного белка-партнера тиоредоксина непосредственно после ДНК-кодирующей последовательности сайта узнавания энтеропептидазой. Высокий уровень экспрессии (1 г/л) слитного белка тиоредоксин/TGF- β 1/C77S (Trx/TGF- β 1/C77S) был получен в клетках *E. coli* штамма BL21(DE3) в нерастворимой форме в составе телец включения. После растворения телец включения в 6 М гуанидине была разработана методика ренатурации слитного белка Trx/TGF- β 1/C77S в системе окисленного и восстановленного глутатиона в присутствии детергента CHAPS (1%). После 72-часовой инкубации в буфере при 4 °С слитный белок очистили на Ni-NTA агарозе и расщепили рекомбинантной легкой цепью энтеропептидазы. Далее целевой белок был отделен от тиоредоксина на Ni-NTA агарозе. Окончательную очистку мономера TGF- β 1/C77S проводили с помощью аффинной хроматографии на сорбенте Affi-Gel 15, связанном с рекомбинантным

внеклеточным доменом рецептора TGF- β 1 типа II T β RII (полученного ранее в нашей лаборатории). С помощью метода иммуноферментного анализа (ELISA) было показано, что очищенный препарат мономера TGF- β 1/C77S отличается высокой аффинностью к рецептору T β RII.

Таким образом, разработанные нами методики позволили получить высокоочищенный и активный препарат мономерного белка TGF- β 1/C77S с выходом около 10 мг с 1 литра культуры клеток. Высокий выход и относительная дешевизна полученного рекомбинантного белка TGF- β 1/C77S позволяет использовать препарат в преclinical и клинических исследованиях для лечения ряда фибропролиферативных нарушений и опухолевых заболеваний, где нерегулируемая экспрессия TGF- β играет ключевую роль.

Материалы Международной конференции «Биология — наука XXI века» (Москва, 24 мая 2012 г.).

EXPRESSION AND PURIFICATION OF RECOMBINANT PROTEIN MONOMER OF THE HUMAN TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BETA 1 (TGF- β 1) IN ESCHERICHIA COLI

Yu.V. KIM, M.E. GASPARYAN

M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow

The authors have developed techniques that allowed to obtain a highly purified and active drug monomeric protein TGF- β 1/S77S with a yield of about 10 mg from 1 liter of cell culture. High yield and the relative cheapness of the resulting recombinant protein TGF- β 1/S77S allows the use of the drug in pre-clinical and clinical studies for the treatment of several fibroproliferative disorders and tumor diseases, where unregulated expression of TGF- β is key.

Keywords: human transforming growth factor-beta1 (TGF- β 1), recombinant protein monomer, *Escherichia coli*.

ИЗУЧЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК КЛУБНЕОБРАЗОВАНИЯ У ТРАНСФОРМАНТОВ КАРТОФЕЛЯ С ИЗМЕНЕННЫМ ГОРМОНАЛЬНЫМ СТАТУСОМ

О.О. КОЛАЧЕВСКАЯ^{1*}, В.В. АЛЕКСЕЕВА², С.Н. ЛОМИН¹, Л.И. СЕРГЕЕВА¹,
Я.И. БУРЬЯНОВ², Г.А. РОМАНОВ¹

¹ ФГБУН «Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева» РАН, Москва;

² Филиал ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков
М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Пушкино Московской области

Для создания растений картофеля с измененным гормональным статусом проводили агробактериальную трансформацию культивируемых *in vitro* 2-месячных растений сорта Дезире целевыми генами под контролем клубнеспецифичного промотора гена пататина В33. Полученные линии были проверены методом ПЦР на наличие целевого гена с промотором В33. Для исследований отобраны 2 линии, имеющие фенотипические отличия от контрольных: линия А1-2 с корнями «ауксиновой» формы (утолщенные, особенно на концах, и относительно короткие), и линия А4-15 с нарушением апикального доминирования побега. Содержание свободной ИУК, определенное методом ЖХВД-МС/МС, было выше в 1,5 раза в клубнях трансформантов по сравнению с контролем, тогда как по содержанию АБК существенных различий не обнаружено. Полученные результаты показывают новые возможности применения ауксин-синтезирующих генов при их тканеспецифичной экспрессии для повышения урожайности картофеля.

Ключевые слова: картофель, измененный гормональный статус, трансформанты, клубнеобразование.

Картофель относится к наиболее важным пищевым культурам, в связи с чем актуальными направлениями его исследований являются повышение урожайности и устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды. В рамках проекта по исследованию роли фитогормонов в регуляции конкурентных отношений акцепторных органов мы создаем новые формы трансгенного картофеля с измененным гормональным статусом для изучения возникающих в результате изменений в ходе развития растений, в первую очередь, формирования и роста клубней. Результаты предшествующих работ нашей лаборатории (Романов и др., 2000; Аксенова и др., 2000) показали, что такие гормоны, как ауксины, цитокинины, гиббереллины, влияют на процесс клубнеобразования.

Для создания растений картофеля с измененным гормональным статусом проводили агробактериальную трансформацию культивируемых *in vitro* 2-месячных растений сорта Дезире целевыми генами под контролем

клубнеспецифичного промотора гена пататина В33, что обеспечивало экспрессию встроенного гена главным образом в клубне. Для получения растений с повышенным содержанием ауксинов растения трансформировали с помощью плазмиды с конструкцией гена *tms1* биосинтеза ауксина под контролем В33-промотора (В33::tms1). Трансформацию листьев проводили по методу Прат (инкубация с бактериями в жидкой среде). После 48 ч инкубации в темноте экспланты переносили на среду MS с 5 мг/л ИУК и 0,1 мг/л БАП и далее культивировали на длинном дне при 26 °С, пересаживая каждые 10–14 дней на свежие среды с антибиотиками канамицином (50 мг/л) и цефотаксимом (250 мг/л). Через 2,5 недели после трансформации на листовых эксплантах отмечали развитие каллуса, а через месяц на ряде каллусов появлялись побеги. Через 7 недель после трансформации каллусы с побегами пересаживали на среду для укоренения (без гормонов), но с антибиотиками. Через 10 недель после трансформации ряд регенерировавших побегов давал корни. Полученные линии были проверены методом ПЦР на наличие целевого гена с промотором В33.

Для исследований отобраны 2 линии, имеющие фенотипические отличия от контрольных: линия А1-2 с корнями «ауксиновой» формы (утолщенные, особенно на концах, и относительно короткие), и линия А4-15

© 2012 г. Колачевская О.О., Алексеева В.В., Ломин С.Н., Сергеева Л.И., Бурьянов Я.И., Романов Г.А.

* Автор для переписки:

Колачевская Оксана Олеговна

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН

127276 Москва, ул. Ботаническая, 35

с нарушением апикального доминирования побега. В опытах по изучению способности к клубнеобразованию (5% сахарозы в среде культивирования) в темноте обе линии формировали первые клубни на неделю раньше контроля, а при выращивании на свету у 25% растений линии А1-2, в отличие от контроля, вначале образовывались пазушные клубни, в дальнейшем израстающие в побеги. Выращивание на агаризованных средах с различным содержанием сахарозы (1, 3, 5 или 8%) показало, что трансформированные растения по сравнению с контрольными способны формировать клубни раньше и при более низком содержании сахарозы, а количество образованных клубней через 8 недель от начала культивирования превосходило контроль в среднем в 2–3 раза. Наиболее ярко эти отличия проявлялись в условиях длинного дня, тогда как в темноте и на коротком дне преимущества трансформированных растений проявлялись, в основном, в массе, но не в числе клубней. Содержание свободной ИУК, определенное методом ЖХВД-МС/МС, было выше в 1,5 раза в клубнях трансформантов по сравнению с контролем, тогда как по содержанию абсцизовой кислоты (АБК) существенных различий не

обнаружено. Полученные результаты показывают новые возможности применения ауксин-синтезирующих генов при их тканеспецифичной экспрессии для повышения урожайности картофеля.

По этой же методике растения картофеля были трансформированы плазмидами с конструкциями, повышающими (pK7WG-B33:gIPT3) или понижающими (pK7WG-B33:gСКХ1) содержание цитокининов; а также повышающими (pK7WG-B33:gGA3ox3 и pK7WG-B33:gGA20ox1) или понижающими (pK7WG-B33:gGA2ox1) содержание гиббереллинов в клубнях. Полученные линии проверены методом ПЦР на наличие целевого гена с промотором В33 и в настоящее время включены в цикл физиологических и биохимических исследований.

Работа выполняется при поддержке Программы Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и Российского фонда фундаментальных исследований (грант №10-04-00638).

Материалы Международной конференции «Биология – наука XXI века» (Москва, 24 мая 2012 г.).

INVESTIGATION OF THE CHARACTERISTICS OF POTATO TUBERS IN TRANSFORMANTS WITH ALTERED HORMONAL STATUS

O.O. KOLACHEVSKAYA¹, V.V. ALEKSEEVA², S.N. LOMIN¹, L.I. SERGEEVA¹,
Y.I. BURYANOV², G.A. ROMANOV¹

¹ *K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS, Moscow;*

² *Branch of M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Pushchino, Moscow Region*

To create a potato with altered hormonal status performed Agrobacterium-mediated transformation in vitro cultured 2-month-old plants of the variety Desiree target genes under the control of the promoter of the gene tuber-specific patatin B33. The resulting lines were tested by PCR for the presence of the target gene promoter B33. For the studies, the two lines with phenotypic differences from the control were selected: the line A1–2 with roots «auxin» form (thickened, especially at the ends, and the relatively short), and a line of A4–15 with violation of apical dominance escape. The content of free IAA determined by HPLC-MS/MS was 1.5 times higher in tubers of transformants compared to control, whereas the content of ABA significant differences were found. The results show new applications auxin-synthesizing genes in their tissue-specific expression to enhance the yield of potatoes.

Keywords: potato, altered hormonal status, transformants, tubers.

БИОТОПЛИВНЫЕ СИСТЕМЫ. ВОЗМОЖНОСТЬ РЕАЛИЗАЦИИ НОВЫХ ПОДХОДОВ ПРИ ОБЪЕДИНЕНИИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ И МИКРОЭЛЕКТРОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

А.Н. РЕШЕТИЛОВ^{1*}, Р.Г. ВАСИЛОВ², Т.А. РЕШЕТИЛОВА¹

¹ ФГБУН «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина» РАН, Пушкино Московской области; ² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

В обзоре рассматривается состояние исследований и новые направления, которые предложены в последнее время при создании биотопливных элементов — устройств, основанных на биологическом материале и производящих прямую генерацию электрической энергии при окислении субстратов. Основная мысль, которую хотели подчеркнуть авторы, состоит в том, что успешное развитие данной тематики, относящейся к биоэнергетике, возможно при тесном взаимодействии таких областей биотехнологии, как биосенсорные и электрохимические исследования, опирающиеся на применение микроэлектронных технологий. Рассматриваются сверхактуальные задачи; при этом некоторые из них настолько экзотичны, что имеют высокую степень спорности в получении положительного результата при выполнении.

Ключевые слова: прямое получение электрической энергии, окисление субстратов ферментами и микробными клетками, современные разработки биотехнологии и микроэлектроники.

Введение

В последние годы исследования по генерации электроэнергии с использованием биологического материала как одного из главных составляющих в этом процессе приобрели широкий размах. Причины повышенного интереса к данной тематике связаны с общими проблемами человечества: поиском новых источников энергии, а также со второй проблемой, сопряженной с использованием ископаемых источников энергии — выделением при сжигании значительного количества углекислого газа. Мнение Брюса Логана, автора книги «Микробные топливные элементы» состоит в том, что самый большой вызов, который человечество бросает окружающей природе, состоит в сохранении производства электрической энергии при снижении выброса углекислого газа. Следует разработать принципиально новую платформу, которая даст возможность производить достаточный объем энергии при снижении

образующегося при этом количества CO_2 . Технология топливных ячеек, и этот автор подчеркивает — микробных — представляет новейший подход к такому способу генерации электричества [18]. Разработка направления биотехнологии по генерации электричества на основе биоматериала получила новый импульс, движущими силами которого являлись не только упомянутые выше причины, но и фундаментальные успехи и важные открытия в области биоэлектрокатализа. Эта область биоэлектрохимии обеспечила исследователей пониманием теоретических и экспериментальных условий, которые важны для создания транспорта зарядов/электронов на электроды, получаемого при окислении органических субстратов.

Системы или элементы, в которых в общем случае используется биологический материал, окисляющий неорганические материалы (газообразный водород) или, как в большинстве случаев, органику, и производится генерация электрического потенциала, называют биотопливными (БТЭ). Материал по БТЭ широко представлен в научной печати. Информацию по различным разделам данной проблемы можно найти в обзорах [4, 7, 14] и монографиях [10, 18], посвященных созданию БТЭ.

В данном обзоре рассматриваются результаты, полученные при разработке БТЭ преимущественно в последние 5–6 лет, а также представлены перспективы ближайших исследований.

© 2012 г. А.Н. Решетилов, Р.Г. Васильев, Т.А. Решетилова

* **Автор для переписки:**

Решетилов Анатолий Николаевич, д.х.н., профессор, заведующий лабораторией биосенсоров Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН
142290 Московская обл., Пушкино, проспект Науки, 5
Тел.: +7 (9467) 73-16-66
Факс: +7 (495) 956-33-70
E-mail: anatol@ibpm.pushchino.ru

Современное состояние научно-технической проблемы

Точную дату появления биотопливных элементов на основе клеток микроорганизмов — в данном обзоре в значительной степени мы будем придерживаться тематики топливных элементов на основе микробных клеток — указать затруднительно. В соответствии с данными Б. Логана [18], первая публикация, принадлежавшая М.С. Potter, относится к 1911 году [22]. В начале 1990-х годов возникла новая волна интереса, описывающая МБТЭ (микробные биотопливные элементы) на основе медиаторов. Последующий всплеск исследований относится к 1999 году, когда была показана возможность безмедиаторного транспорта электронов [15].

В микробной клетке энергия окисления органических субстратов превращается в два компонента — электрическую часть, обеспечивающую мембранные потенциалы, и химическую в форме АТФ. По сути БТЭ представляет собой модель клетки, имитирующей генерацию электрического потенциала. Электроды могут быть замкнуты нагрузочным сопротивлением, измеряя на котором напряжение и ток, можно получать данные об электрической мощности БТЭ. В классическом микробном БТЭ анодное отделение и катодное разделены протон-проницаемой мембраной. Микробные клетки находятся в анодном отделении, производя окисление субстратов и выделяя электроны, переносимые на анод, и протоны в окружающий раствор. Катодное отделение насыщается воздухом, из которого используется кислород, восстанавливаемый до воды электронами, поступившими на катод. Выделяемую электрическую мощность БТЭ (P) определяют по формуле $P=I \times V$, где I — ток, протекающий через внешнюю нагрузку, V — напряжение на ней. Теоретически напряжение V определяется разностью формальных потенциалов окислителя $E_{\text{окислителя}}$ и окисляемого субстрата $E_{\text{субстрата}}$, то есть $V=E_{\text{окислителя}} - E_{\text{субстрата}}$ - μ . При этом существуют необратимые потери μ , снижающие реальное значение потенциала. Их формируют омическое сопротивление электролита, наличие концентрационного градиента, кинетические ограничения реакций переноса электронов на электрод, внутреннее сопротивление БТЭ. Формальный потенциал E определяется в терминах изменения свободной энергии Гиббса ΔG , связанной с реакцией окисления/восстановления вещества, $E = -\Delta G/nF$, где n — число переносимых электронов, F — константа Фарадея.

В работе [7] предложена общая структура, включающая в себя практически все виды существующих

топливных элементов и ячеек и кратко описывающая их особенности. Схематически такая структура в модифицированном виде приведена на рисунках 1 и 2.

В соответствии с представлениями [7] к электрохимическим топливным системам относятся такие, которые обеспечивают прямое получение электрической энергии из химических и фотохимических реакций. К ним относятся батареи, топливные элементы/ячейки и солнечные батареи. Для батарей типичным является то, что анодное и катодное топливо сохраняется внутри системы и не может быть заменено. В источниках этого типа используются химические неорганические растворы. Ситуация изменяется для топливных элементов/ячеек, в которых анодное и катодное топливо (окисляемые субстраты) хранится вне и может быть заменено. БТЭ относятся к этой группе источников. В качестве преобразующего элемента — биологического катализатора — в них могут выступать как ферменты, так и целые клетки микроорганизмов. У клеток микроорганизмов в процессе биоэлектродокатализа участвуют мембранные ферменты и ферменты, локализованные внутри клетки. В процессе дальнейшего анализа авторы обсуждаемой статьи рассматривают варианты топливных элементов, содержащих активированные растворы и электроды; под термином «активированные» авторы подразумевают наличие биоматериала. При этом считается, что биологический материал в свободном или иммобилизованном виде должен находиться в анодном или катодном отделениях. И, наконец, обращается внимание на то, осуществляется ли процесс биоэлектродокатализа с участием медиаторов (переносчиков электронов) или имеет место прямой транспорт электронов.

Продолжая описанную классификацию топливных ячеек, авторы обращают внимание на их мощностные характеристики. Так, батареи и солнечные элементы имеют, в зависимости от конструкции, широкий диапазон развиваемых мощностей, заключающийся в пределах от 10^{-3} до 10^7 Вт. Уровень мощностей от 10^0 до 10^7 Вт заполнен топливными ячейками, относящимися к батареям, аккумуляторам — к элементам, работающим на реакциях окисления-восстановления. Далее расположен так называемый «незаполненный сегмент» — $10^0 - 5 \times 10^{-3}$ Вт, для которого, возможно, не указаны типы топливных элементов из-за их, по-видимому, отсутствия. Диапазон, имеющий отношение к биосенсорам и биотопливным элементам, составляет величину от 10^{-10} до 10^{-5} и от 10^{-7} до 5×10^{-3} Вт, соответственно [7].

Из представленной информации вытекает следующее. Во-первых, авторы обобщают два типа биотопливных элементов — биосенсоры и биотопливные ячейки.



Рис. 1. Классификация химических/биохимических топливных систем в соответствии с обзором [7]



Рис. 2. Классификация химических/биохимических топливных систем в соответствии с обзором (продолжение [7])

Подразумевается, что рассматриваются биосенсоры электрохимического типа. Обобщение сделано на основе того, что по сути процессы генерации электрического тока в обоих случаях одинаковы и основаны на эффектах биоэлектрокатализа. Единственным отличием БТЭ от биосенсоров может являться тот факт, что в некоторых случаях биосенсоры работают в режиме измерения тока при поданном на электроды напряжении от внешнего источника. Второй факт, на который обращают внимание авторы указанного обзора, состоит в том, что БТЭ относятся к источникам питания низкой мощности — выходная мощность заключена в диапазоне 10^{-7} – 5×10^{-3} Вт.

Значительный вклад в развитие процессов генерации биоэлектроэнергии внесли наши соотечественники. Так, в 1985 году было зарегистрировано открытие явления биоэлектрокатализа, принадлежащее группе исследователей из Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова и Института электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН. Биоэлектрокатализ выражается эффектом ускорения ферментами процессов переноса электронов на границе раздела фаз «ионный/электронный проводник» [3]. Фактически биоэлектрокатализ лежит в основе процессов генерации электрического потенциала ферментами и клетками микроорганизмов и составляет основу функционирования биологических топливных элементов и биологических сенсоров электрохимического типа.

Поскольку суть процесса в БТЭ можно описать схемой переноса электрона по цепи «органический субстрат — фермент/клетка — медиатор — электрод (анод) — внешняя цепь — электрод (катод)», добавив процессы восстановления кислорода в анодном отделении, на этом примере проследим основные направления, в которых проводятся исследования по БТЭ в мире в настоящее время.

Первые практически наиболее значимые результаты в разработке БТЭ на основе фермента алкогольдегидрогеназы были достигнуты финскими исследователями во главе с профессором Arne Halme [11]. Интересы этой группы сосредоточены на выяснении роли размеров и форм топливных элементов, моделировании процессов генерации электроэнергии [34]. Для БТЭ, описанного в работе [11], авторами была представлена детальная информация о параметрах устройства. Так, было показано, что при окислении 1 грамма метанола теоретически можно получить около 5000 мА·час электрической энергии.

Рассматривая публикации последних 3–5 лет, можно отметить основные направления поиска. Ин-

тенсивно развивается применение новых материалов для формирования электродов. В основном внимание сконцентрировано на использовании углеродных наноматериалов. Так, в работе [33] предложен вариант иммобилизации глюкозооксидазы на платинированных углеродных нанотрубках, обеспечивающий облегченный перенос электронов на электрод. Применение углеродных нанотрубок описано также в работах [35, 17]. Проводится поиск новых типов медиаторов [26] и их встраивание в электроды БТЭ [19]. При этом внимание уделяется не только анодным, но и катодным медиаторам [6].

Использование полимеров на основе осмия позволяет формировать структуры, являющиеся удерживающим элементом и медиатором одновременно; в исследовании [21] представлен новый путь синтеза осмиевого полимера, предназначенного для использования в БТЭ. Применение этанола в качестве топлива описано в работе [24].

Разрабатываются новые конструкции БТЭ, в том числе безмембранные [32]. Рассматриваются способы иммобилизации фермента глюкозооксидазы на поверхности углеродных нанотрубок, обеспечивающих облегченную безмедиаторную передачу электронов [12]. Показано, что эффективной конструкцией ферментного БТЭ является проточная безмембранная система [25]. Новый тип БТЭ на основе двух ферментов — глюкозооксидазы и уреазы — представлен в [8]; электродвижущая сила создавалась за счет ферментативной активности и генерации разности рН в анодном и катодном отсеках. При этом традиционный отсек с глюкозой и глюкозооксидазой называли катодом, а не анодом. Мощность элемента находилась в пределах десятков микроватт.

Проводится тестирование новых штаммов на их эффективность при использовании в БТЭ [13]. Разрабатываются новые типы катализаторов [28]. Описаны БТЭ на основе органоидов — в публикации [5] представлены характеристики системы на основе митохондрий. В обзоре [16] рассматриваются преимущества, обусловленные использованием ферментов. Важный вопрос, связанный с применением БТЭ как источника электрической энергии и в организме и возможностью управления его режимом, рассмотрен в публикации [31]. Подходы к безмедиаторному биоэлектрокатализу освещены в работе [23].

В исследовании [1] изучали особенности переноса заряда в системе «окисляемый субстрат — бактериальные клетки — медиатор — электрод» для бакте-

риальных клеток рода *Gluconobacter*. Провели выбор водорастворимого медиатора электронного транспорта, взаимодействующего с мембранолокализованными ферментами бактериальных клеток. Показали, что наиболее эффективным медиатором является 2,6-дихлорфенолиндофенол по сравнению с 1,4-бензохиноном и гексацианоферратом(III) калия.

Выбрали эффективный тип биокатализатора и осуществили оценку эффективности биокаталитического окисления субстратов клетками рода *Gluconobacter*. Установили, что максимальная величина генерируемого потенциала достигается для штамма *Gluconobacter oxydans sb. sp. industrius* (ВКМ В-1280) при использовании в качестве субстрата окисления глюкозы. Изучили влияние концентрации субстрата, медиатора, рН буферного раствора и геометрических размеров электродов на величины генерируемого потенциала. Нашли, что усредненными параметрами БТЭ являются следующие значения: развиваемое напряжение порядка 6 мВ при токе 0,5 мкА и величине нагрузки в 10 кОм для случая, когда величина внутреннего сопротивления составляет 90 кОм.

Установили, что растворенный в анодном отделении кислород не оказывает существенного влияния на работу биотопливного элемента. В диапазоне от 10 до 40 °С изучили влияние температуры на величину генерируемой ЭДС. Показали возможность использования отходов бродильных производств в качестве топлива [2]. В целом можно отметить, что рассмотренные выше темы исследований характеризуют общее направление разработок.

Как упоминалось ранее, в работе [16] рассматривались преимущества, обусловленные использованием ферментов в БТЭ. При этом применение микробных клеток имеет свои преимущества и недостатки по сравнению с ферментами. Так, в качестве преимущества микробных БТЭ можно отметить, что:

- субстратная специфичность микроорганизмов в высшей степени разнообразна, в связи с чем они могут служить биокатализаторами для широкого круга субстратов;
- стоимость производства биокатализаторов на основе микроорганизмов низка по сравнению со стоимостью выделения фермента;
- при нескольких стадиях окисления субстрата электрохимический сигнал целых клеток будет выше, чем в случае изолированного фермента;
- некоторые потенциально пригодные для БТЭ ферменты неустойчивы;

- в микроорганизмах ферментам обеспечивается лучший способ защиты от мешающих растворенных веществ;
- многие микроорганизмы подробно охарактеризованы генетически;
- разумное использование мутаций дает возможность дополнительно увеличить активность, селективность и специфичность микробного БТЭ. К недостаткам микробных БТЭ можно отнести:
- высокую приспособляемость и изменчивость свойств микроорганизмов, которые могут изменять параметры БТЭ;
- проблему поддержания активности микроорганизмов неизменной в течение длительного времени;
- в восстановительных реакциях микроорганизмов процессу переноса электронов с помощью медиаторов может мешать атмосферный кислород;
- микробные катализаторы имеют больший объем, чем ферментные.

Указанные параметры свидетельствуют о том, что при наличии практической задачи следует руководствоваться этими данными для поиска оптимального решения.

Актуальность исследований БТЭ. Возможные направления

Рассматривая возможные направления исследований по БТЭ, в частности, по БТЭ на основе клеток микроорганизмов, можно выделить несколько основных задач.

Актуальной является тема улучшения параметров БТЭ, например, проблема повышения его энергоотдачи. Этот вопрос связан с конструкцией электродов, их типом, материалом. Как показал краткий анализ данных, приведенных выше, разработке новых типов электродов придается большое значение. Задача может быть поставлена как поиск условий максимальной энергоотдачи одиночного БТЭ за счет нахождения оптимальных условий переноса заряда. Представляется, что при нахождении оптимальных условий следует варьировать поверхность электродов, доступную для иммобилизации, тестировать используемый материал, получая электроды с наименьшим сопротивлением.

К актуальным относится разработка и описание параметров лабораторной модели гибридного устройства, в котором БТЭ сопряжен с электронным накопительным элементом в виде конденсатора высокой емкости (иони-

стора, суперконденсатора) для передачи и хранения электрической энергии.

Актуальным также является снижение размеров БТЭ. Исследования по миниатюризации БТЭ, общая тенденция создания аппаратов и устройств с высокой плотностью функциональных элементов уже давно развивается в мировой практике. Так, в 1999 году были опубликованы материалы японских исследователей, в которых предлагался вариант многоканального БТЭ, выполненного с помощью микроэлектронной технологии. Многоканальный БТЭ представлял собой устройство, содержащее пары БТЭ-ячеек (25 пар), включенных последовательно. Каждая пара содержала анодное и катодное отделения, разделенные ион-проницаемой мембраной. В качестве фермента использовали глюкозооксидазу. Система была сформирована на кремниевой подложке. Точные размеры системы не указывались. Предполагаемая мощность такой батареи должна была составлять единицы ватт. Ее применение планировалось в роботизированных системах [27].

Отметим, что данные цели исследований могут быть реализованы только при условии использования достижений современной электроники/микроэлектроники и тесного взаимодействия с соответствующими специалистами.

Для выполнения подобных работ положительным моментом является опыт, полученный в исследованиях, опирающихся на использование микроэлектронных технологий и связанный с применением биологического материала. Так, при взаимодействии трех коллективов — ФГБУН «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина» РАН, ФГБУН «Институт радиотехники и электроники им. В.А. Котельникова» РАН, ФГБУН «Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН — была разработана планарная конструкция, содержащая фермент глюкозооксидазу, нанесенный на систему нанoeлектронов. Данная система представляла собой биосенсорную систему наноуровня. Была показана функциональная активность фермента, проявляющаяся в окислении глюкозы. С позиции указанной публикации [27] эта система может быть рассмотрена как элемент многоканального биотопливного устройства, аналогичный предложенному в работе.

Необходимо еще раз вернуться к пункту «Актуальность исследований БТЭ», обратившись к тем зарубежным разработкам, выполняемым в последнее время, которые оцениваются самими авторами как исследования

экзотичные и имеющие высокую степень спорности или риска получения отрицательного результата. Такие проекты важны для рассмотрения, поскольку они могут привести к положительному решению непредсказуемым образом.

Задача 1. В 2012 году была опубликована серия работ по созданию гибридных систем типа «БТЭ-живой организм» [9, 29]. Сама тема исследований не является новой — уже порядка десятилетия обсуждается возможность получения окисляемых субстратов для БТЭ, вживленного в организм, из органических ресурсов живого существа. Однако ранее работы затрагивали вопрос чисто теоретически и до сих пор имеются только одиночные примеры реализации на практике. Фактически в работе [9] впервые реализован практический вариант, который представлен БТЭ безмембранного типа, вживленный в свободно перемещающуюся улитку. Для формирования БТЭ использовали РQQ-зависимую глюкозодегидрогеназу, в катодном отсеке применили лакказу. Электроды представляли собой углеродные нанотрубки, обеспечивающие безмедиаторный транспорт электронов. Встроенная система обеспечивала длительную регистрацию генерации тока — так, через две недели функционирования уровень тока практически был равен начальному.

Следующим шагом в исследовании [30] была попытка показать, что электрическую энергию, генерируемую маломощным БТЭ, можно эффективно накапливать с помощью ионистора — конденсатора большой емкости. В данном случае емкость конденсатора равнялась 1 фараде. Для его зарядки использовали три параллельно включенных БТЭ. За время порядка 60 мин. напряжение на конденсаторе нарастало до 240 мВ при общей накопленной энергии порядка 28 миллиджоулей. Накопленной энергии было достаточно, чтобы провернуть ротор миниэлектродвигателя на 90°. В целом, по мнению авторов, применение такой системы может быть самым разнообразным — в основном использоваться для обеспечения энергией биомикроустройств.

С нашей точки зрения, актуальность разработки таких устройств является высокой и имеет смысл направлять усилия для решения подобной задачи.

Задача 2. Второй тип исследований непосредственно не связан с разработкой и созданием БТЭ. На наш взгляд, он носит характер идеи, позволяющей подойти к формулировке задач по созданию БТЭ нового типа. Речь идет о бактериальных клетках рода *Desulfobulbus*, образующих нитевую структуру и живущих на границе с высоким значением градиента

растворенного кислорода [20]. По данным авторов, бактерии этого типа относятся к анаэробам (окисление органических веществ — сероводорода — происходит в бескислородных условиях) и обитают в придонных слоях водоемов. Сообщество бактерий представляет собой нити, располагающиеся вертикально. Ориентировочно длина одиночной нити составляет величину 1–2 см при среднем диаметре нити около 1–5 мкм. Часть нити, которая находится сверху, живет в условиях с избытком кислорода. Субстрата для окисления — сероводорода — у них мало или вовсе нет. Часть нити, которая обращена вниз, находится в обратных условиях — в среде имеется высокая концентрация окисляемого субстрата — сероводорода, но мало или нет кислорода для его окисления. В результате бактерии, объединенные в нити, представляют собой электрокабели, по которым непрерывно транспортируются электроны в направлении «снизу — вверх». Электроны образуются в нижней части нити при окислении сероводорода. По каждой цепочке бактерий они транспортируются вверх, где участвуют в реакции восстановления кислорода.

Анализируя эту ситуацию, можно отметить, что данный тип структуры объединенных бактериальных клеток представляет собой созданный природой совершенный тип БТЭ по следующим соображениям:

- бактерии объединены в структуру, осуществляющую функции БТЭ — энергию химических связей преобразуют в электрическую;
- не существует вопросов, связанных с иммобилизацией клеток на электрод для передачи заряда;
- не существует проблемы использования медиаторов;
- нет необходимости использования ион-селективных мембран для разделения зарядов;
- нитевая структура должна иметь высокую степень механической прочности;
- очевидно, что природой сформированы условия для сохранения электрической изоляции такого «кабеля».

Представляется важным выполнить анализ условий и технологию получения таких нитей искусственным путем или использовать природные структуры, чтобы формировать БТЭ, основанные на объединенных бактериальных клетках рода *Desulfobulbus*.

Заключение

В представленном аналитическом обзоре рассматривался вопрос о функционировании БТЭ и их

параметрах. Важно отметить, что в настоящее время в Российской Федерации существует ряд коллективов, у которых имеется теоретическое представление о происходящих процессах в биотопливных элементах различного назначения. Такие коллективы имеют навыки теоретической и практической работы. Ими проводятся исследования по разработке математических моделей процессов, происходящих в БТЭ, которые позволяют выбрать правильные направления совершенствования биотопливных элементов. Имеются идеи создания гибридных систем накопления электричества. Указанное составляет основу для того, чтобы создать базу развития направления «Биоэнергетика. Биотопливные элементы» в РФ.

Литература

1. Алферов С.В., Томашевская Л.Г., Понаморева О.Н., Богдановская В.А., Решетилов А.Н. Анод биотопливного элемента на основе бактериальных клеток *Glucobacter oхudans* и медиатора электронного транспорта 2,6-дихлорфенолиндофенола // Электрохимия. — 2006. — Т. 42. — № 4. — С. 456–457.
2. Алферов С.В. Физико-химические аспекты переноса заряда в системе «субстрат — бактериальные клетки *Glucobacter oхudans* — медиатор — электрод» в биотопливном элементе. Дисс. на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 03.01.06 — Биотехнология (в том числе бионанотехнологии). — М., Московская государственная академия тонкой химической технологии имени М.В. Ломоносова, 2010.
3. Варфоломеев С.Д., Тарасевич М.Р., Ярополов А.И., Березин И.В., Богдановская В.А. Государственный реестр открытий СССР, открытие N 311, 19 декабря 1985 г.
4. Решетилов А.Н., Понаморева О.Н., Решетилова Т.А., Богдановская В.А. Генерация электрической энергии в биотопливном элементе на основе клеток микроорганизмов // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. — 2005. — Т. 1(2). — С. 54–62.
5. Arechederra R., Minter Sh.D. Organelle-based biofuel cells: Immobilized mitochondria on carbon paper electrodes // *Electrochimica Acta*. — 2008. — Vol. 53(1). — P. 6698–6703.
6. Barriere F., Ferry Y., Rochefort D., Leech D. Targetting redox polymers as mediators for laccase oxygen reduction in a membrane-less biofuel cell // *Electrochemistry Communications*. — 2004. — Vol. 6(3). — P. 237–241.
7. Bullen R.A., Arnot T.C., Lakeman J.B., Walsh F.C. Biofuel cells and their development // *Biosensors and Bioelectronics*. — 2006. — Vol. 21(15). — P. 2015–2045.

8. Giroud G., Gondran Ch., Gorgy K., Pellissier A., Lenouvel F., Philippe Cinquin Ph., Cosnier S. A quinhydrone biofuel cell based on an enzyme-induced pH gradient // *Journal of Power Sources*. – 2011. – Vol. 196. – P. 1329–1332.
9. Halamkova L., Halamek J., Bocharova V., Szczupak A., Alfonta L., Katz E. Implanted biofuel cell operating in a living snail // *J. Am. Chem. Soc.* – 2012. – Vol. 134. – P. 5040–5043.
10. Halme A. and Zhang X-Ch. Biological fuel cells: Processing substrates to electricity by the aid of biocatalysts / In: *Bioseparation and Bioprocessing*, Ganapathy Subramanian (Ed.). – Weinheim: Wiley-VCH, 2007. – P. 355–382.
11. Halme A. 2010 <http://automation.tkk.fi/files/biofuelcell/sfc00pos.htm>.
12. Holzinger M., Goff A.L., Cosnier S. Carbon nanotube/enzyme biofuel cells // *Electrochimica Acta*. – 2012. – Vol. 82(1). – P. 179–190.
13. Hubenova Y., Mitov M. Potential application of *Candida melibiosica* in biofuel cells // *Bioelectrochemistry*. – 2010. – Vol. 78. – P. 57–61.
14. Katz E., Pita M. Biofuel cells controlled by logically processed biochemical signals: Towards physiologically regulated bioelectronic devices. (Concept paper) // *Chem. Eur. J.* – 2009. – Vol. 15. – P. 12554–12564.
15. Kim B.H., Kim H.J., Hyun M.S., Park D.H. Direct electrode reaction of Fe(III)-reducing bacterium *Shewanella putrefaciens* // *J. Microbiol. Biotechnol.* – 1999. – Vol. 9(2). – P. 127–131.
16. Kim J., Jia H., Wang P. Challenges in biocatalysis for enzyme-based biofuel cells // *Biotechnology Advances*. – 2006. – Vol. 24. – P. 296–308.
17. Lee J.Y., Shin H.Y., Kang S.W., Park C., Kim S.W. Application of an enzyme-based biofuel cell containing a bioelectrode modified with deoxyribonucleic acid-wrapped single-walled carbon nanotubes to serum // *Enzyme and Microbial Technology*. – 2011. – Vol. 48. – P. 80–84.
18. Logan B.E. *Microbial Fuel Cells*. – John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, 2008. – 216 p.
19. Nien P-C., Wang J-Y., Chen P-Y, Chen L-C, Ho K-C. Encapsulating benzoquinone and glucose oxidase with a PEDOT film: Application to oxygen-independent glucose sensors and glucose/O₂ biofuel cells // *Bioresource Technology*. – 2010. – Vol. 101. – P. 5480–5486.
20. Pfeffer C. et al. Filamentous bacteria transport electrons over centimetre distances // *Nature*. – 2012. – Vol. 491. – P. 218–221.
21. Poeller S., Beyl Y., Vivekananthan J., Guschin D.A., Schuhmann W. A new synthesis route for Os-complex modified redox polymers for potential biofuel cell applications // *Bioelectrochemistry*. – 2012. – Vol. 87. – P. 178–184.
22. Potter M.C. Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds // *Proc. R. Soc. Lond. B*. – 1911. – Vol. 84. – P. 260–276.
23. Ramanavicius A., Kausaite A., Ramanaviciene A. Biofuel cell based on direct bioelectrocatalysis // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2005. – Vol. 20. – P. 1962–1967.
24. Ramanavicius A., Kausaite A., Ramanaviciene A. Enzymatic biofuel cell based on anode and cathode powered by ethanol // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2008. – Vol. 24. – P. 761–766.
25. Rincon R., Lau C., Luckarift H.R., Garcia K.E., Adkins E., Johnson G.R., Atanassov P. Enzymatic fuel cells: Integrating flow-through anode and air-breathing cathode into a membrane-less biofuel cell design // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2011. – Vol. 27(15). – P. 132–136.
26. Rotta C.E.H., Ciniciato G., Gonzalez E.R. Triphenylmethane dyes, an alternative for mediated electronic transfer systems in glucose oxidase biofuel cells // *Enzyme and Microbial Technology*. – 2011. – Vol. 48(6). – P. 487–497.
27. Satoshi S., Karube I. The development of microfabricated biocatalytic fuel cells // *Trends in Biotechnology*. – 1999. – Vol. 17. – P. 50–52.
28. Sayed E.T., Saito Y., Tsujiguchi T., Nakagawa N. Catalytic activity of yeast extract in biofuel cell // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. – 2012. – Vol. 114. – P. 521–525.
29. Schroeder Uwe. From in vitro to in vivo-biofuel cells are maturing // *Angewandte Chem. Int. Ed.* – 2012. – Vol. 51. – P. 7370–7372.
30. Szczupak A., Halamek J., Halamkova L., Bocharova V., Alfonta L. and Katz E. Living battery – biofuel cells operating in vivo in clams // *Energy Environ. Sci.* – 2012. – Vol. 5. – P. 8891–8895. DOI: 10.1039/c2ee21626d.
31. Tam K.T., Pita M., Ornatska M., Katz E. Biofuel cell controlled by enzyme logic network – Approaching physiologically regulated devices // *Bioelectrochemistry*. – 2009. – Vol. 76. – P. 4–9.
32. Zebda A., Renaud L., Cretin M., Innocent C., Ferrigno R., Tingry S. Membraneless microchannel glucose biofuel cell with improved electrical performances // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2010. – Vol. 149. – P. 44–50.
33. Zebda A., Gondran C., Cinquin P., Cosnier S. Glucose biofuel cell construction based on enzyme, graphite particle and redox mediator compression // *Sensors and Actuators B: Chemical*. – 2012. – Vol. 173. – P. 760–764.
34. Zhang X. and Halme A. Modeling of a microbial fuel cell process // *Biotechnology Letters*. – 1995. – Vol. 17(8). – P. 809–814.
35. Zhang J., Zhu Y., Chen C., Yang X., Li C. Carbon nanotubes coated with platinum nanoparticles as anode of biofuel cell // *Particuology*. – 2012. – Vol. 10. – P. 450–455.

BIOFUEL SYSTEMS. ABILITY TO IMPLEMENT NEW APPROACHES BY COMBINING BIOTECHNOLOGY AND MICROELECTRONICS RESEARCH

A.N. RESHETILOV¹, R.G. VASILOV², T.A. RESHETILOVA¹

¹ *G.K. Scriabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms RAS, Pushchino, Moscow Region;*

² *National Research Center «Kurchatov Institute», Moscow*

Report examines the state of research and new directions proposed in recent years to create biofuel elements — devices based on biological material and produce direct electrical power generation in the oxidation of substrates. The main idea that we want to stress the authors, is that the successful development of the subject related to bioenergetics, possibly in close cooperation areas such biotechnology, and electrochemical biosensor research, supported by the use of microelectronic technologies. Consider problems of high relevance, and some of them are so exotic, that have a high degree of controversy in a positive result in execution.

Keywords: direct production of electric energy, oxidation of substrates by enzymes and microbial cells, advanced development of biotechnology and microelectronics.

ТЕХНОЛОГИИ ПРЯМОЙ КОНВЕРСИИ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА В БИОТОПЛИВО И БИОПЛАСТИКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Э.Б. НАМСАРАЕВ^{1*}, Р.Г. ВАСИЛОВ²

¹ *Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН,*

² *Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва*

В обзорной статье рассматриваются способы получения биотоплива (этанол, бутанол, алканов — гептадекан и пентадекан, изопреноидов), биопластика (полигидроксibuтирата) и биосырья для органического синтеза (жирных спиртов — гексадеканол и др., этилена, ацетона, молочной кислоты) из углекислого газа в ходе фотосинтеза с использованием генетически модифицированных цианобактерий.

Ключевые слова: биотопливо, углекислый газ, фотосинтез, цианобактерии, синтетическая биология.

Введение

Сокращение мировых рентабельных запасов нефти ставит задачу разработки новых высокоэффективных возобновляемых источников топлива (Murray J. & King D., 2012) [23]. Одной из наиболее эффективных и перспективных на настоящий момент технологий представляется технология прямого синтеза биотоплива из углекислого газа с использованием генетически модифицированных цианобактерий.

Особенностью данной технологии является отсутствие промежуточных этапов трансформации биомассы, таких как ферментация сахаров для получения этанола или гидрогенизация липидов для получения биодизеля. Трансформированные клетки цианобактерий в ходе фотосинтеза поглощают углекислоту из окружающей среды и конвертируют ее в один из видов биотоплива (этанол, бутанол, алканы и т.д.). При этом сами клетки не разрушаются, а продолжают синтезировать продукт, который выделяется в среду.

Благодаря этой способности продуктивность цианобактериального синтеза превышает все существующие аналоги биотоплива на 1–2 порядка (139 тонн возобновляемого дизеля в год с гектара (Joule Unlimited)

[16] и 65–233 тонны этанола в год с гектара (Algenol и Joule Unlimited). Для сравнения: максимальная продуктивность производства этанола из сахарного тростника (один из наиболее эффективных процессов производства биотоплива 1-го поколения) составляет немногим более 8 тонн этанола с гектара в год [3, 9]. Сходные цифры приводятся для биодизеля [2]. Термохимическая конверсия целлюлозного сырья также уступает по продуктивности методам цианобактериального синтеза и составляет около 3,5 тонн дизельного топлива и около 2,5 тонн этанола с гектара в год (при расчете учитывался максимальный урожай для ивы 15,2 и мискантуса 18 тонн сухого вещества/(га год) (Boehmel C. et al., 2008) [7] и коэффициенты конверсии синтез-газа в дизельное топливо через процесс Фишера — Тропша — 200 литров из тонны сухой биомассы и синтез-газа в этанол — 160 литров из тонны сухой биомассы (Sims R.E.H. et al., 2010) [34]. Наиболее эффективный метод термохимической конверсии биомассы в биотопливо, разработанный компанией Cool Planet BioFuels при поддержке корпораций Google, BP, Conoco и GE, достигает продуктивности в 37 тонн возобновляемого дизеля в год с гектара, что также уступает методам цианобактериального синтеза (рис. 1 и 2) (BiofuelsDigest, 2012 [6]; Boehmel C. et al., 2008 [7]; Budny D. & Sotero P., 2007 [9]; Sanderson K., 2006 [29]; Schenk P.M. et al., 2008 [32]; Sims R.E.H. et al., 2010 [34]).

Годовое потребление основных видов топлива в России составляет около 29–32 млн. тонн бензина, 30–34 млн. тонн дизельного топлива и 7 млн. тонн авиакеросина (данные Росстата и ИнфоТЭК).

© 2012 г. Намсараев Э.Б., Василев Р.Г.

* **Автор для переписки:**

Намсараев Зоригто Баирович,

к.б.н., н.с.,

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН,

117312 Москва, пр-т 60-летия Октября, 7, корп. 2

E-mail: zorigto@gmail.com

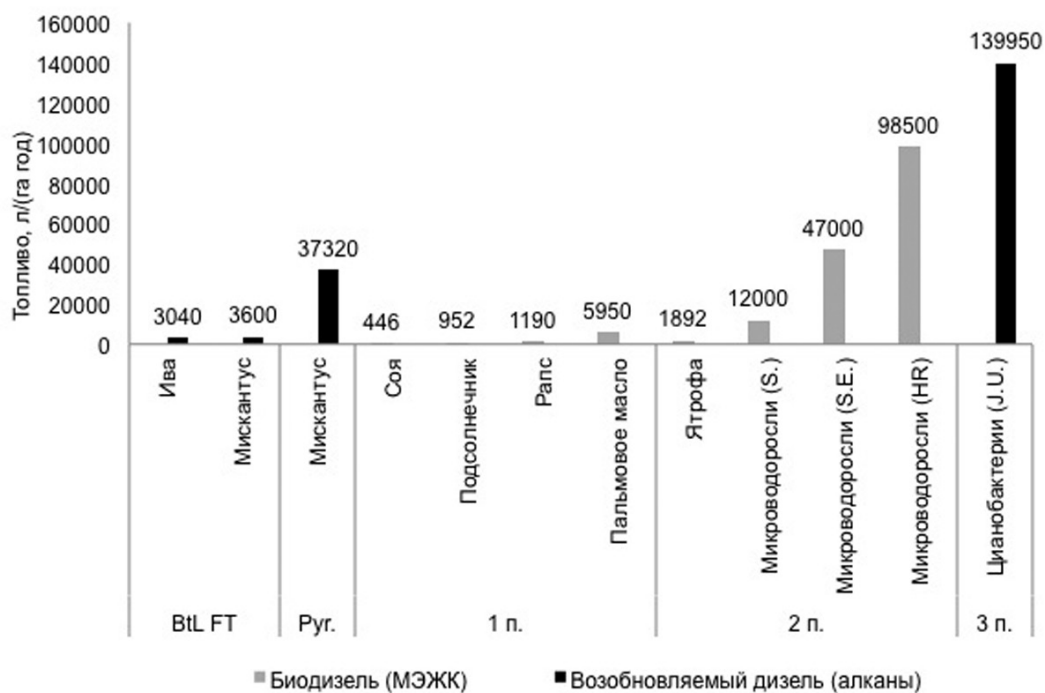


Рис. 1. Продуктивность (в литрах на гектар в год) существующих технологий производства биодизельного топлива (МЭЖК, метиловые эфиры жирных кислот) и возобновляемого дизельного топлива (алканы).

Примечание: BtL – «Biomass to Liquid»; FT – процесс Фишера – Тропша; Pyr. – пиролиз по технологии компании Cool Planet Biofuels; 1 п., 2 п., 3 п. – 1, 2 и 3 поколения биотоплива, соответственно; S. – компания Seambiotic; S.E. – компания Sapphire Energy; HR – компания HR BioPetroleum, с 2011 г. компания Cellana; J.U. – компания Joule Unlimited

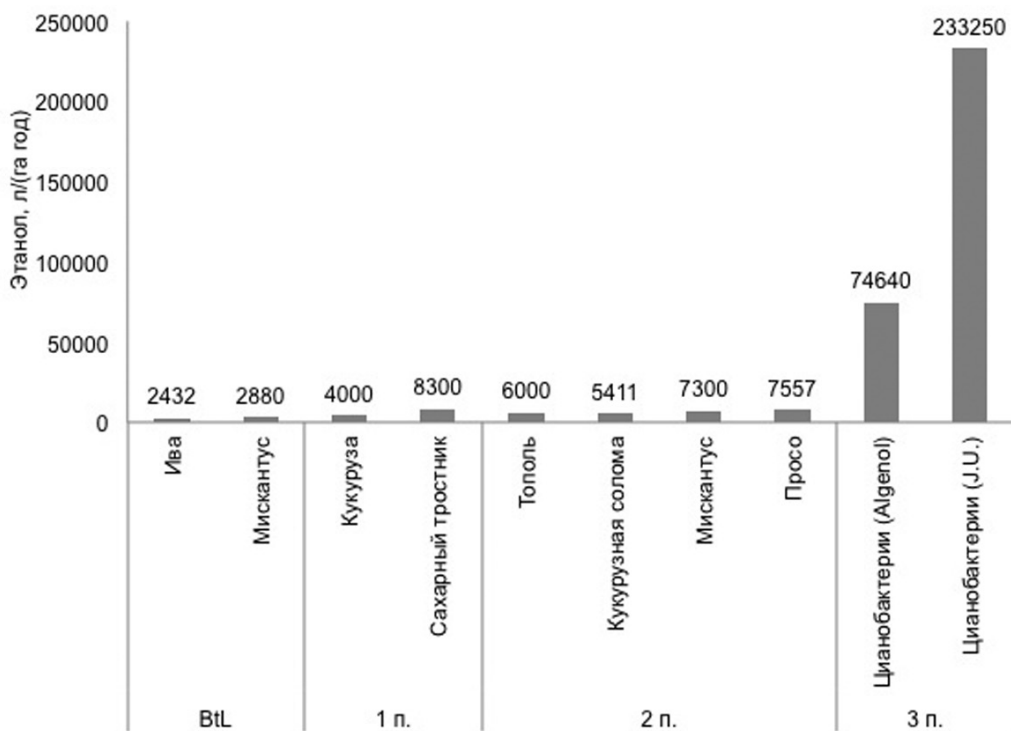


Рис. 2. Продуктивность (в литрах на гектар в год) существующих технологий производства биоэтанола.

Примечание: см. подпись к рис. 1

При заявленной продуктивности технологии (139 тонн возобновляемого дизеля в год с гектара — *Joule Unlimited* [18]) данный объем может быть произведен в биореакторах площадью не менее 5 тысяч км², что эквивалентно 1/8 (около 12%) площади Московской области. По освещенности наиболее подходящим регионом является юг России, включая Ставрополье, Калмыкию, Астраханскую область, Алтайский край, юг Забайкалья (*Tredici M.R., 2010*) [37]. В этих условиях расчетная продуктивность будет меньше, чем у систем, расположенных на юге Испании и юге США, но сравнима с севером США и большей частью территории Китая.

Цианобактерии как источник биотоплива 3-го поколения

Цианобактерии — это фототрофные микроорганизмы, использующие фотосинтез для роста. Они обладают рядом свойств, которые делают их перспективными кандидатами для производства биотоплива:

- Они обладают очень высокими скоростями роста, на несколько порядков превышающими скорости роста высших растений и многих водорослей.

- Цианобактериям не нужно синтезировать такие структурные элементы, как целлюлоза в стволе и корневой системе, что позволяет накапливать гораздо больше целевых продуктов при трансформации.

- Цианобактерии обладают сравнительно небольшим геномом и гораздо легче поддаются генетической модификации по сравнению с эукариотическими микроводорослями.

- Многие виды цианобактерий способны расти при повышенной солености воды, что позволяет использовать воду, не пригодную для орошения.

- Для культивирования цианобактерий не нужны дорогостоящие органические субстраты. Для роста им необходимы воздух (N₂ и CO₂), вода, минеральные соли и свет. Поэтому культивирование цианобактерий, как правило, требует относительно небольших затрат (*Koksharova O. & Wolk C., 2002*) [20].

Ключевым этапом в развитии технологии стало увеличение количества полностью секвенированных геномов цианобактерий. На настоящий момент (декабрь 2012 г.) получена информация о 62 геномах цианобактерий (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/browse/>) и их количество продолжает увеличиваться. Это привело к прорывам в нескольких направлениях. Во-первых, это позволило кардинально повысить эффективность производства биотоплива цианобактериями за счет более

точной генетической модификации клеток. Во-вторых, были обнаружены гены, участвующие в естественном пути биосинтеза алканов у цианобактерий, что и дало возможность создания технологии прямого синтеза основных компонентов дизельного топлива (*Schirmer A. et al., 2010*) [33].

В отличие от биотоплива 1-го поколения, производимого из пищевых сельскохозяйственных культур (кукуруза, сахарный тростник и т.д.), топливо, произведенное из цианобактерий, не конкурирует с производством продуктов питания. Для данной технологии может использоваться земля, не пригодная для выращивания сельскохозяйственных культур, и вода, не пригодная для орошения и питья, что особенно важно в условиях роста цен на продовольствие. Индекс продовольственных цен ФАО (Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН) в 2008 году поднялся до самых высоких значений за последние 30 лет (FAO, 2013) [13]. В сочетании с экономическим кризисом это привело к резкому падению уровня жизни миллионов людей по всему миру и вызвало дебаты насчет использования продовольствия для производства биотоплива.

Цианобактерии не нуждаются в органических соединениях для роста, а используют углекислый газ из атмосферы в ходе фотосинтеза. Эта способность делает их перспективными объектами для технологий по улавливанию углекислого газа в антропогенных выбросах (в первую очередь, ТЭЦ и промышленность), а также создает возможность для использования данной технологии в борьбе с изменением климата согласно Киотскому протоколу (Россия участвовала в первом периоде Киотского протокола с 2008 по 2012 годы). Содержание CO₂ в атмосфере выросло более чем в 1,5 раза с середины XIX века с 260–280 ppm до 394 ppm (декабрь 2012 г.). При этом скорость накопления CO₂ в атмосфере постепенно растет с 0,8 ppm/год в 1960-е годы до 2 ppm/год в 2000-е годы (*National Oceanic & Atmospheric Administration, 2013*) [24].

Таким образом, производство биотоплива из цианобактерий находится на стыке ключевых глобальных вызовов: 1) снижения эффективности мировой нефтедобычи; 2) роста цен на продовольствие и падения уровня жизни; 3) накопления CO₂ в атмосфере и изменения климата.

Производство биотоплива и биопластиков генетически модифицированными цианобактериями

Основным путем автотрофной фиксации углекислоты у цианобактерий является цикл Кальвина. Об-

разующийся в данном цикле 3-фосфоглицерат через ряд промежуточных этапов превращается в Ацетил-КоА и пируват, которые на следующем этапе используются для синтеза биотоплива; при этом часто встает задача снижения активности конкурирующих биохимических путей в клетке (Hellingwerf K.J. & de Mattos M.J., 2009) [16]. В настоящее время опубликована информация о путях трансформации цианобактерий для прямого получения биотоплива (этанол, бутанол, алканов — гептадекан и пентадекан, изопреноидов), биопластика (полигидроксibuтирата) и сырья для органического синтеза (жирных спиртов — гексадеканол и др., этилена, ацетона, лактата) (Wang B. et al., 2012) [38].

Этанол. Этанол используется в виде добавки в моторное топливо в концентрации до 10–25%, либо в отдельных случаях в концентрации 85–100%. Для производства этанола используется конвертация пирувата через ацетальдегид с использованием генов, кодирующих пируватдекарбоксилазу (Pdc) и алкогольдегидрогеназу (Adh) из *Zygotomonas mobilis* (Deng M.-D. & Coleman J.R., 1999) [10]. Максимальная концентрация этанола в среде составила около 0,5 г/л. При этом клетки штамма цианобактерии *Synechocystis* PCC 6803 способны выдерживать концентрацию этанола до 1% (≈ 230 мМ) без видимых повреждений (Dexter J. & Fu J., 2009) [11]. Данный уровень продуктивности системы слишком низок для промышленного использования, так как энергетические затраты на дистилляцию этанола из среды превышают объем энергии, получаемый от производимого этанола (Luo D. et al., 2010) [22]. Тем не менее эту проблему удалось решить компании Algenol благодаря оригинальной конструкции биореактора (см. следующий раздел).

Бутанол. В сравнении с этанолом бутанол менее летуч и обладает более высокой теплотворной способностью, составляющей около 90% от теплотворной способности бензина (29,2 Мж/л и 32,5 Мж/л) (Wang B. et al., 2012) [38]. Синтез изобутилового альдегида и изобутанола происходит с использованием *kivd* гена из *Lactococcus lactis*, *alsS* гена из *Bacillus subtilis* и *ilvC* и *ilvD* генов из *E. coli*. Максимальные концентрации изобутилового альдегида и изобутанола в среде составили 1100 и 450 мг/л, соответственно (Atsumi S. et al., 2009) [5].

Алканы. Алканы — это насыщенные углеводороды, они являются основным компонентом дизельного топлива. Для производства алканов может использоваться естественный путь синтеза алканов из жирных кислот, включающий в себя ацил-ацил транспортный

белок (ACP), редуктазу (AAR) и альдегидкарбониллазу (ADC) (Schirmer A. et al., 2010) [33]. Данный путь был открыт недавно у цианобактерий и применяется для синтеза алканов с длиной углеродной цепи C15–C16 из органического сырья с использованием *E. coli* (компания LS9) или для прямого синтеза алканов из CO₂ (компания Joule Unlimited, см. следующий раздел) (Reppas N.B. & Ridley C.P., 2010) [28]. Алканы являются наиболее предпочтительным видом биотоплива, так как требуют наименьших изменений в существующей топливной инфраструктуре и обладают невысокой токсичностью для клеток цианобактерий. Наименее токсичны алканы с длиной цепи C3 и C11, тогда как алканы с длиной C6 более токсичны. Еще более токсичными для цианобактерий являются альдегиды и кислоты, а спирты обладают наибольшей токсичностью (Kamarainen J. et al., 2012) [19].

Изопреноиды. Изопреноиды — терпены с длиной углеродной цепочки C10–C15, являются потенциальным дизельным и реактивным топливом. Для синтеза изопреноидов цианобактериями использовалась изопренсинтаза (IsprS) из бобового растения Пуэрария дольчатая — *Pueraria montana* (Lindberg P. et al., 2009) [21].

Полигидроксibuтират. Полигидроксibuтират (ПГБ, международный код PHB) — полиэфир, принадлежащий к группе полигидроксиалканоатов (PHAs). По физическим свойствам сходен с полистиролом (PS), применяющимся для производства одноразовой посуды, упаковочных, строительных и отделочных материалов. Мировое производство полистирола составляет по разным оценкам от 10 до 14 млн. тонн в год (2010 г.). В отличие от полистирола, ПГБ является биоразлагаемым пластиком и может применяться в медицине, в том числе для производства рассасывающегося хирургического шовного материала. Наиболее известным продуцентом ПГБ является водород-окисляющая бактерия *Ralstonia eutropha*. В аэробных условиях при избытке сахаров данный организм способен накапливать конечный продукт до 80–90% от сухой массы клетки. В связи с необходимостью использования большого количества органических субстратов цена ПГБ довольно высока, поэтому была сделана попытка трансформировать растения генами, кодирующими ПГБ, и перейти к широкомасштабному производству полимера. Эксперименты на высших растениях *Arabidopsis thaliana* и *Nicotiana tabacum* привели к довольно высокому выходу продукта (до 40 и 18% от сухой массы, соответственно), но ростовые характеристики у растений оказались невысокими. Кроме того, производство ПГБ с помощью трансгенных растений

вступает в прямую конкуренцию с производством продуктов питания.

Цианобактерии являются природным продуцентом ПГБ, тем не менее его содержание в диких штаммах невысоко. Трансформация цианобактерии *Synechococcus* PCC 7942 генами из *Ralstonia eutropha* и выращивание на среде с низким содержанием азота и добавлением ацетата обеспечили достижение внутриклеточной концентрации ПГБ в 25,6% сухой массы клетки (Takahashi et al., 1998). Цианобактерии обладают более высокими скоростями роста, чем высшие растения, что позволяет получить больший урожай на единицу времени. Еще более перспективным путем был бы синтез 3-гидроксибутирата — мономера ПГБ, который секретируется в среду, в отличие от ПГБ, накапливающегося внутриклеточно (Wang B. et al., 2012) [38].

Высшие жирные спирты. Эти соединения имеют широкий спектр применения от производства косметики до производства резин и смазочных жидкостей. Наибольшая продуктивность (0,2 мг/л) по гексадеканолу и октадеканолу была достигнута с использованием *fat* генов из жожоба (Tan X. et al., 2011) [36].

Бутандиол. Бутандиол является дефицитным сырьем на мировом рынке и может использоваться в качестве растворителя или сырья для химической технологии (Балов А., Станишевский М., 2011) [1]. Цианобактерия *Synechococcus elongatus* PCC7942 была трансформирована с использованием *alsD* генов (ацетолактатдекарбоксилаза) энтеробактерий (Oliver J.W.K. et al., 2013) [26].

Этилен. Этилен является одним из наиболее распространенных соединений в органическом синтезе и, в частности, используется при производстве полиэтилена. Максимальный выход этилена (≈ 37 мг/л) был достигнут с использованием гена *efe* из *Pseudomonas syringae* (Takahama K. et al., 2003) [35]. Тем не менее модифицированный штамм был нестабилен и после нескольких пересевов терял способность к росту.

Ацетон. Ацетон также является одним из наиболее распространенных соединений в органическом синтезе и широко используется в качестве растворителя. Максимальный выход ацетона составил 36 мг/л на среде, лимитированной по азоту и фосфору в темноте и анаэробных условиях. Цианобактериальный штамм был трансформирован с использованием генов ацетоацетатдекарбоксилазы (*adc*) и коэнзим А трансферазы (*ctfAB*) (Zhou J. et al., 2012) [39].

Лактам. Молочная кислота может использоваться для синтеза биodeградируемого полиэстера (полилак-

тата), имеющего широкий спектр применения в медицине и пищевой индустрии. Цианобактерия *Synechococcus* PCC7942 в фотоавтотрофных условиях секретировала в среду лактат после трансформации генами *ldhA*, *lldP* и *udhA*, достигая концентрации в 56 мг/л (Niederholtmeyer H. et al., 2010) [25].

Проекты на демонстрационной стадии

Несмотря на ряд трудностей в разработке высокоэффективных технологий производства цианобактериального биотоплива сообщается, что несколько компаний добились серьезного прогресса и вышли на демонстрационную стадию развития. В первую очередь — это американские компании Algenol и Joule Unlimited.

Компания Joule Unlimited провела генетическую модификацию штамма цианобактерии *Synechococcus* sp. PCC7942, которая позволяет синтезировать на свету в фотоавтотрофных условиях алканы или этанол. При этом происходило выделение конечных продуктов в среду без разрушения клеток цианобактерий. Углеводороды имели состав: $\approx 75\%$ — н-гептадекан, $\approx 25\%$ — н-пентадекан, которые могут использоваться в качестве моторного топлива. Содержание продукта составляло 1,8–5% от сухой массы. Сообщается, что дизельное топливо и этанол, полученные по технологии Joule, не нуждаются в дополнительной обработке и полностью готовы к использованию в существующей инфраструктуре. В промышленных условиях технология Joule позволит получать до 14000 кубометров дизельного топлива/км² в год по цене в \$50 за баррель и 23000 кубометров этанола/км² в год. В сентябре 2012 года компанией был открыт демонстрационный завод в Нью-Мексико (США), на котором производится этанол и дизельное топливо под марками Sunflow-E и Sunflow-D, соответственно. Sunflow-D состоит из алканов, которые могут быть добавлены в обычное дизельное топливо в концентрации выше 50%. Sunflow-D не имеет примесей серных соединений и имеет очень высокое цетановое число.

Специалистами компании была выполнена очень большая работа по разработке и патентованию новых технологий. Например, один из патентов Joule Unlimited (US 7785861 «Hyperphotosynthetic organisms», 2010-08-31) содержит информацию о гиперэкспрессии 250 генов и инактивации 48 генов. В списке перечисляются гены, участвующие в широком круге клеточных процессов: повышение эффективности фотосинтеза, повышение CO₂-фиксации, синтез НАД и НАДФ, температурная устойчивость, устойчивость к низкому рН, устойчи-

вость к NO_2 и SO_2 , солеустойчивость, поглощение азота, синтез витамина B_{12} , снижение активности ряда конкурирующих метаболических путей и т.д. В настоящее время компания Joule Unlimited имеет только 2 опубликованных патента (второй патент US 7794969 «Methods and compositions for the recombinant biosynthesis of n-alkanes», 2010-09-14), но утверждается, что общее число заявок, подготовленных компанией, составляет больше 70. Поэтому можно ожидать, что общий список модифицированных генов увеличится.

В сентябре 2011 года было заявлено, что «Роснано» инвестирует до \$35 млн. в технологии получения биотоплива из цианобактерий, разработанные компанией Joule Unlimited (Роснано, 2011) [4]. При этом председатель правления ОАО «Роснано» А.Б. Чубайс в феврале 2012 года вошел в состав правления компании Joule Unlimited (Joule Unlimited, 2012) [18]. ОАО «Роснано» в сентябре 2011 года заявило, что в рамках партнерства с компанией Joule Unlimited в России планируется открыть научно-технологический центр для разработки биотоплива из цианобактерий, но на настоящий момент информация об открытии центра отсутствует.

Компания Algenol также использует цианобактерии для синтеза этанола. 27 сентября 2012 года представители компании сообщили, что система вышла на уровень продуктивности в 7400 кубометров этанола/км² в год (тестовые фотобиореакторы площадью 4 акра), что на порядок выше, чем при выращивании кукурузы и ее сбраживании (350 кубометров/км² в год) или сахарного тростника (830 кубометров/км² в год) (<http://www.algenolbiofuels.com>). Также это выше, чем производство этанола из целлюлозной биомассы (180–1800 кубометров/км² в год в зависимости от типа сырья).

Оценки жизненного цикла производства этанола показывают, что при невысоких концентрациях этанола в среде (менее 0,5%) расход энергии на дистилляцию этанола часто превышает объем энергии, который может быть получен от синтезированного этанола (Luo D. et al., 2010) [22]. Специалистами компании Algenol была разработана интересная модель биореактора, которая позволила резко снизить затраты на дистилляцию этанола из среды. В процессе «Direct to Ethanol» используются пластиковые резервуары с цианобактериями и большой газовой фазой, в которую закачивается CO_2 из промышленных источников, а затем осуществляется инкубация на свету. Утром начинается фотосинтез и выработка этанола, выделяемого цианобактериями в питательную среду. Днем, когда температура повышается, с поверхности среды начинается испарение этанола и воды, которые

конденсируются на внутренней поверхности резервуара и по стенкам стекают в канавки для сбора продукта. Таким образом, производство этанола не требует разрушения клеток, не нуждается в высоких затратах энергии и не ингибируется высокими концентрациями этанола. Патент 20100068801 «Closed photobioreactor system for continued daily in situ production of ethanol from genetically enhanced photosynthetic organisms with means for separation and removal of ethanol» 03-18-2010.

Расчеты показывают, что при уровне продуктивности данной технологии в 5600 кубометров этанола/км² в год эффективность конверсии солнечной энергии в биотопливо составляет 1,8% (Luo D. et al., 2010) [22]. Данные показатели не превышают максимальные теоретические значения эффективности фотосинтеза, которые составляют 4,6% для C_3 растений (в том числе и цианобактерий) при 30 °C и 380 ppm CO_2 (Zhu X.G. et al., 2008) [40].

Еще одна интересная конструкция фотобиореакторов была разработана компанией Algae.Tec (Австралия) для выращивания микроводорослей, но может быть применена и для выращивания цианобактерий. Фотобиореакторы находятся в стандартных стальных грузовых контейнерах, свет, необходимый для роста микроводорослей, поступает внутрь контейнера через систему световодов (McConchie-Stroud system). Это позволяет контролировать температуру и освещенность внутри контейнера, а также увеличить эффективную продолжительность светового дня. Система может быть использована в условиях умеренного и холодного климата, в том числе и на большей части России. В сентябре 2012 года авиакомпания Lufthansa подписала соглашение с Algae.Tec об организации производства в Европе, согласно которому авиакомпания будет покупать не менее 50% от вырабатываемого топлива. В январе 2012 года аналогичное соглашение было подписано с китайской Shandong Kerui Group Holding, крупным производителем нефтяного и энергетического оборудования. Система из 250 модульных биореакторов будет производить 33 миллиона литров моторного топлива и 33 тысячи тонн биомассы общей стоимостью более 40 миллионов долларов.

Исследовательские программы в области цианобактериального биотоплива

Необходимость разработки высокоэффективных видов биотоплива связана со снижением эффективности мировой нефтедобычи и отсутствием значимого прироста объемов добычи начиная с 2005 года. До-

быча ископаемых ресурсов требует все больших затрат энергии (например, при использовании тяжелой нефти) или применения более сложных и затратных технологий (например, бурение глубоких скважин на шельфе). Анализ EROI (Energy Return on Investment — объем энергии, полученной от использования нефти, к энергии, потраченной на ее добычу) показывает, что в 1990-х годах мировой EROI нефтедобычи составлял 26–35 к 1, но к 2006 году этот показатель сократился до 18:1 (Gagnon N. et al., 2009) [14]. При этом EROI нефтедобычи в США упал еще ниже — до 11:1 (Guilford M.C. et al., 2011) [15]. Кроме того, отмечается, что в 2005 году мировая добыча нефти достигла «потолка» продуктивности в районе 75 миллионов баррелей в день и дальше не увеличивается несмотря на дальнейший рост стоимости нефти. Авторы исследования, опубликованного в журнале «Nature» в 2012 году, считают, что в настоящее время производство нефти уже не может увеличиваться пропорционально росту потребления и необходимо принятие мер по повышению энергоэффективности и разработке возобновляемых источников энергии (Murray L. & King D., 2012) [23].

В связи с этим резко увеличились инвестиции в разработку новых видов биотоплива. При этом высокую активность проявляют не только страны нетто-импортеры нефти (США, Евросоюз, Китай), но и нетто-экспортеры нефти. Особенно интересна стратегия стран Ближнего Востока (Саудовская Аравия, ОАЭ, Катар, Египет и др.), в совокупности обладающих 48,1% доказанных мировых запасов нефти и обеспечивающих 32,6% мировой нефтедобычи (British Petroleum, 2012) [8]. Крупнейшая нефтегазовая компания мира Saudi Aramco проводит исследования цианобактерий и микроводорослей в собственном исследовательском центре в городе Дахран (Dhahran), Саудовская Аравия. Авиакомпания Qatar Airways совместно с Airbus, Qatar Petroleum, Qatar University Science and Technology Park и Rolls-Royce в настоящее время создают крупнейшее в мире предприятие полного цикла по производству биоавиатоплива из фототрофных микроорганизмов — Qatar Advanced Biofuel Platform (QABP). При этом CO₂ будет поступать с нефтеперерабатывающего завода Qatar Petroleum.

Учитывая значимость поставленной цели, аналогичные зарубежные программы реализуются крупными исследовательскими консорциумами с привлечением ведущих зарубежных исследовательских центров на самом высоком научно-техническом уровне. Программы по разработке биотоплива последнего поколения с исполь-

зованием цианобактерий поддерживаются крупнейшими нефтегазовыми компаниями мира, государственными программами и венчурными инвесторами.

Из списка крупнейших нефтегазовых компаний Forbes 2012 года в данном направлении ведут работы:

- Saudi Aramco (№ 1);
- ExxonMobil (№ 4) заключила партнерское соглашение с компанией Synthetic Genomics (США, Калифорния), одним из основателей которой является известный молекулярный биолог Крейг Вентер (ExxonMobil планирует вложить в исследования цианобактерий и микроводорослей \$600 миллионов в течение ближайших 10 лет, из них \$300 миллионов в Synthetic Genomics);
- PetroChina (№ 5) заключила соглашение с американскими компаниями Boeing и Honeywell UOP, а также Китайской академией наук (Institute of Bioenergy and Bioprocess Technology) о разработке авиационного биотоплива из возобновляемой биомассы, включая цианобактерии и микроводоросли;
- Abu Dhabi National Oil Co (№ 11), возможно, заключит соглашение с ExxonMobile и Synthetic Genomics;
- Total (№ 13) в январе 2012 года заключила соглашение с французской компанией Celectis.

Крупные программы по разработке биотоплива из цианобактерий осуществляются в ведущих американских университетах (UC Davis, UCLA, Caltech, MIT и т.д.) при поддержке Министерства обороны и Министерства энергетики США, а также частных компаниях (Algenol, Joule Unlimited) при поддержке венчурных инвесторов. На государственном уровне поставлена задача укрепления энергетической независимости США и перехода армии и флота США на альтернативные источники энергии. Судя по открытой информации, опубликованной об армии США в 2008 году, Министерство обороны потратило около 16 миллиардов долларов на закупки топлива. 95% топлива, потребляемого Минобороны США, составляют дизельное топливо и авиакеросин (RAND, 2011) [27], которые могут быть заменены биотопливом из цианобактерий и микроводорослей. Планируется, что в 2020 году 50% топлива, используемого американским ВМФ, будет из возобновляемых источников.

Испытания цианобактериального топлива ВМФ и ВВС США еще не проводились, но предыдущее поколение биотоплива на основе липидов микроводорослей активно тестируется в последние 2 года. В июне 2011 г. вертолет Seahawk US Navy совершил тестовый полет на смеси 50% обычного топлива и 50% топлива из микроводорослей от Solazyme. В ноябре 2011 года Boeing 737 компании United Airlines совершил коммерческий полет

на топливе, на 40% выработанным из микроводорослей. В марте 2012 года фрегат USS Ford совершил тестовый переход с 50% топлива из микроводорослей. В июле 2012 года на Тихом океане в рамках международных военно-морских учений RIMPAC на смеси 50:50 из обычного топлива и биотоплива из микроводорослей и отработанного растительного масла действовала группа Great Green Fleet в составе авиагруппы авианосца «Nimitz», ракетного крейсера, 2 ракетных эсминцев и одного танкера.

С увеличением объемов производства снижается стоимость топлива. Открытые данные по закупкам Военно-морским флотом США: октябрь 2010 года – 20 тысяч галлонов топлива из микроводорослей по цене \$424 за галлон, декабрь 2011 года – 450 тысяч галлонов по цене \$26 за галлон. В проспекте эмиссии, опубликованном Комиссией по ценным бумагам и биржам США, сообщается, что при полномасштабном производстве цена на топливо из микроводорослей от Solazyme составит \$3,44 за галлон, что сравнимо со стоимостью обычного топлива \$3–4 за галлон. Можно ожидать, что цианобактериальное топливо пройдет аналогичный путь тестирования и снижения цены с ростом объемов производства.

В Европе исследования поддерживаются как на уровне научных программ Евросоюза, так и на уровне отдельных государств (Федеральное министерство науки и образования Германии, Министерство сельского хозяйства Нидерландов и т.д.). В Китае исследования в области биотоплива проводятся под эгидой Государственного плана развития индустрии биологических материалов (Plan for Biological Material Industry – Biological Material Plan) и Национального стратегического плана для развивающихся видов индустрии (Plan for the National Strategic Emerging Industries). Хотя китайские специалисты критикуют сам план как недостаточно детальный и имеющий в основном декларативный характер, нужно отметить, что индустрия биотоплива в Китае развита намного сильнее, чем в России. Об этом свидетельствуют как количество и уровень публикаций в международных журналах китайских исследователей, так и вхождение китайских государственных и частных компаний в международные альянсы по производству и разработке биотоплива.

Несмотря на то, что цель разработки перспективных видов биотоплива вошла в «Комплексную программу развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 года» (утверждена Правительством РФ от 24 апреля 2012 г. № 1853п-П8), а также связана с

несколькими приоритетными направлениями развития науки, технологий и техники в Российской Федерации (Указ Президента РФ от 7 июля 2011 г. N 899) и входит в области интересов нескольких технологических платформ, конкретная задача по разработке биотоплива с использованием генетически модифицированных цианобактерий еще не была поставлена.

Перспективные направления исследований

Необходимо отметить, что зарубежные программы исследований пока что находятся на ранней стадии развития. Даже наиболее продвинутые компании (Joule Unlimited, Algenol в США) находятся на демонстрационной стадии. Анализ тенденций научно-технического развития в данной области показывает большой потенциал для инноваций. Разработка новых путей и конечных продуктов биосинтеза цианобактериями, повышение эффективности фотосинтетических процессов, использование штаммов, приспособленных к различным условиям культивирования, повышение эффективности биореакторов и технологических процессов – во всех этих областях есть серьезный потенциал для улучшения технологии.

Также следует учитывать роль производства биотоплива в глобальной задаче создания инфраструктуры возобновляемой биопромышленности. В настоящее время фотосинтетические микроорганизмы (цианобактерии и микроводоросли) используются для производства высокомаржинальных продуктов, но с низкими физическими объемами производства. Это производство пищевых добавок и фармацевтики (омега-3 жирные кислоты для снижения уровня холестерина, астаксантин для улучшения качества рыбы на аквафермах, производство биологически активных соединений, компонентов кремов и т.д.). Это небольшие по объемам рынки, но они позволяют отработать технологии культивирования фототрофных микроорганизмов. Производство биотоплива – это возможность серьезно нарастить объемы производства, что создает качественно иную ситуацию на рынке за счет создания полномасштабной инфраструктуры (Ducat D.C. et al., 2011) [12]. Следующим этапом развития рынка будет постепенное замещение продуктов нефтепереработки продуктами биопереработки (biorefinery), в первую очередь, за счет различных биопластиков. В дальней перспективе развитие рынка биотоплива должно привести к полной замене продуктов, сделанных из ископаемого сырья, продуктами из возобновляемого сырья.

Литература

1. Балов А., Станишевский М. Бутандиол и его производные // The Chemical Journal. — 2011. — № 9. — С. 46–49 (www.tcj.ru/2011/9/BDO.pdf).
2. Васильев Р.Г. Перспективы развития производства биотоплива в России. Сообщение 1: биодизель // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. — 2007. — Т. 3. — № 1. — С. 47–54.
3. Васильев Р.Г. Перспективы развития производства биотоплива в России. Сообщение 2: биоэтанол // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. — 2007. — Т. 3. — № 2. — С. 50–60.
4. Роснано, 2011 (<http://www.rusnano.com/Post.aspx/Show/32838>).
5. Atsumi S., Higashide W., Liao J.C. Direct photosynthetic recycling of carbon dioxide to isobutyraldehyde // Nature Biotech. — 2009. — Vol. 27. — P. 1177–1180.
6. BiofuelsDigest, 5 Марта 2012 г. (<http://www.biofuelsdigest.com/bdigest/2012/03/05/ll-cool-planet-rocks-the-bells>).
7. Boehmel C., Lewandowski I., Claupein W. Comparing annual and perennial energy cropping systems with different management intensities // Agric. Syst. — 2008. — Vol. 96. — P. 224–236.
8. BP Statistical Review of World Energy, June 2012.
9. Budny D., Sotero P. The global dynamics of biofuels // Brazil Institute Special Report. — 2007. — Vol. 4. — P. 8.
10. Deng M-D., Coleman J.R. Ethanol synthesis by genetic engineering in cyanobacteria // Appl. Environ. Microbiol. — 1999. — Vol. 65. — P. 523–528.
11. Dexter J. & Fu J. Ethanol synthesis by genetic engineering in cyanobacteria // Applied Environmental Microbiology. — 2009. — Vol. 65. — P. 523–528.
12. Ducat D.C., Way J.C., Silver P.A. Engineering cyanobacteria to generate high-value products // Trends Biotechnol. — 2011. — Vol. 29. — P. 95–103.
13. FAO, 2013 (<http://www.fao.org/worldfoodsituation/wfs-home/foodpricesindex/ru/>).
14. Gagnon N. et al. A preliminary investigation of energy return on energy investment for global oil and gas production // Energies. — 2009. — Vol. 2. — P. 490–503.
15. Guilford M.C. et al. A new long term assessment of Energy Return on Investment (EROI) for U.S. oil and gas discovery and production // Sustainability. — 2011. — Vol. 3. — P. 1866–1887.
16. Hellingwerf K.J., de Mattos M.J. Alternative routes to biofuels: light-driven biofuel formation from CO₂ and water based on the 'photanol' approach // J. Biotechnol. — 2009. — Vol. 142(1). — P. 87–90.
17. Hempel F. et al. Microalgae as bioreactors for bioplastic production // Microbial Cell Factories. — 2011. — Vol. 10. — P. 81. doi:10.1186/1475-2859-10-81.
18. Joule Unlimited, 2012 (<http://www.jouleunlimited.com/news/2012/joule-elects-anatoly-chubais-board-directors>).
19. Kamarainen J., Knoop H., Stanford N.J., Guerrero F., Akhtar M.K., Aro E.M., Steuer R., Jones P.R. Physiological tolerance and stoichiometric potential of cyanobacteria for hydrocarbon fuel production // J. Biotechnol. — 2012. — Vol. 162(1). — P. 67–74.
20. Koksharova O., Wolk C. Genetic tools for cyanobacteria // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 2002. — Vol. 58. — P. 123–137.
21. Lindberg P., Park S., Melis A. Engineering a platform for photosynthetic isoprene production in cyanobacteria, using Synechocystis as the model organism // Metab. Eng. — 2009. — Vol. 12. — P. 70–79.
22. Luo D., Hu Z., Choi D.G., Thomas V.M., Realff M.J., Chance R.R. Life cycle energy and greenhouse gas emissions for an ethanol production process based on blue-green algae // Environ. Sci. Technol. — 2010. — Vol. 44. — P. 8670–8677.
23. Murray J., King D. Climate policy: Oil's tipping point has passed // Nature. — 2012. — Vol. 481(7382). — P. 433–435.
24. National Oceanic & Atmospheric Administration, 2013 (<http://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/>).
25. Niederholtmeyer H., Wolfstaedt B.T., Savage D.F., Silver P.A., Way J.C. Engineering cyanobacteria to synthesize and export hydrophilic products // Appl. Environ. Microbiol. — 2010. — Vol. 76. — P. 3462–3466.
26. Oliver J.W.K., Machado I.M.P., Yoneda H., Atsumi S. Cyanobacterial conversion of carbon dioxide to 2,3-butanediol // PNAS. — 2013. doi: 10.1073/pnas.1213024110 January 7, 2013 201213024.
27. RAND Corporation. Alternative Fuels for military applications. 2011.
28. Reppas N.B., Ridley C.P. (2010). Methods and compositions for the recombinant biosynthesis of n-alkanes. Joule Unlimited, Inc., US Patent No. 7794969.
29. Sanderson K. US biofuels: A field in ferment // Nature. — 2006. — Vol. 444. — P. 673–676.
30. Sanders K. & Murthy G.S. Life cycle analysis of algae biodiesel // Int. J. Life Cycle Assess. — 2010. — Vol. 15. — P. 704–714.
31. SEC, 2011 (<http://www.sec.gov/Archives/edgar/data/1311230/000119312511064209/ds1.htm>).
32. Schenk P.M., Thomas-Hall S.R., Stephens E., Marx U.C., Mussgnug J.H., Posten C., Kruse O., Hankamer B. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production // Bioengineering Research. — 2008. — Vol. 1. — P. 20–43.
33. Schirmer A., Rude M.A., Li X., Popova E., del Cardayre S.B. Microbial biosynthesis of alkanes // Science. — 2010. — Vol. 329. — N 5991. — P. 559–562.

34. Sims R.E.H., Mabee W., Saddler J.N., Taylor M. An overview of second generation biofuel technologies // *Bioresource Technology*. – 2010. – Vol. 101. – P. 1570–1580.
35. Takahama K., Matsuoka M., Nagahama K., Ogawa T. Construction and analysis of a recombinant cyanobacterium expressing a chromosomally inserted gene for an ethylene-forming enzyme at the *psbAI* locus // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. – 2003. – Vol. 95. – P. 302–305.
36. Tan X., Yao L., Gao Q., Wang W., Qi F., Lu X. Photosynthesis driven conversion of carbon dioxide to fatty alcohols and hydrocarbons in cyanobacteria // *Metab. Eng.* – 2011. – Vol. 13. – P. 169–176.
37. Tredici M.R. Photobiology of microalgae mass cultures: understanding the tools for the next green revolution // *Biofuels*. – 2010. – Vol. 1. – N 1. – P. 143–162.
38. Wang B., Wang J., Zhang W., Meldrum D.R. Application of synthetic biology in cyanobacteria and algae // *Front. Microbiol.* – 2012. – Vol. 3. – P. 344.
39. Zhou J., Zhang H., Zhang Y., Li Y., Ma Y. Designing and creating a modularized synthetic pathway in cyanobacterium *Synechocystis* enables production of acetone from carbon dioxide // *Metabolic Engineering*. – Vol. 14. – P. 394–400.
40. Zhu X.G., Long S.P., Ort D.R. What is the maximum efficiency with which photosynthesis can convert solar energy into biomass? // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 2008. – Vol. 19(2). – P. 153–159.

TECHNOLOGY OF DIRECT CONVERSION OF CARBON DIOXIDE INTO BIOFUELS AND BIOPLASTICS FROM GENETICALLY MODIFIED CYANOBACTERIA

Z.B. NAMSARAEV¹, R.G. VASILOV²

¹ *S.N. Winogradsky Institute of Microbiology RAS,*

² *National Research Center «Kurchatov Institute», Moscow*

In a review article discusses how biofuels (ethanol, butanol, alkanes – heptadecan and pentadecane, isoprenoids), bioplastic (polyhydroxybutyrate) and bio raw materials for organic synthesis (fatty alcohols – hexadecanol, etc., ethylene, acetone, lactic acid) can be produced from carbon dioxide during photosynthesis, using genetically modified cyanobacteria.

Keywords: biofuels, carbon dioxide, photosynthesis, cyanobacteria, synthetic biology.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕННО-МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОРГАНИЗМОВ С ПОМОЩЬЮ ГИДРОГЕЛЕВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ МИКРОЧИПОВ

Д.А. ВЕРШИНКИН^{1*}, И.А. ГЕТМАН¹, С.И. ЧИЖОВА¹, Д.А. ГРЯДУНОВ²,
В.М. МИХАЙЛОВИЧ², А.С. ЗАСЕДАТЕЛЕВ², Г.А. РОМАНОВ¹

¹ *Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН,*

² *Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва*

Обзор с использованием собственных данных. Рассматриваются преимущества авторского метода идентификации генно-модифицированных организмов с помощью гидрогелевых биологических микрочипов. Мультиплексная амплификация занимает не более 2,5 часов. Анализ результатов проводится в автоматическом режиме с использованием специализированного программного обеспечения. Этим данный метод выгодно отличается от альтернативных методов обнаружения ГМО. Метод нашел практическое применение для мониторинга наличия ГМ-продуктов.

Ключевые слова: гидрогелевые биологические микрочипы, генно-модифицированные организмы, методы идентификации.

Появившаяся в начале 1970-х годов технология рекомбинантных ДНК дала возможность получения генно-модифицированных организмов (ГМО), содержащих чужеродные гены. Уже через десятилетие в США были созданы первые линии ГМО, предназначенные для коммерческого использования. С тех пор количество ГМО, созданных для использования на практике, неуклонно растет. Генная инженерия позволила создать новые сорта растений, устойчивых к неблагоприятным условиям внешней среды и вредителям, обладающих лучшими ростовыми и вкусовыми качествами. Проходят испытания ГМ-сорта древесных пород с повышенным содержанием целлюлозы и быстрым ростом. По данным Международной службы мониторинга использования сельскохозяйственных биотехнологий (ISAAA), на 2011 год набор коммерческих ГМ-культур включал в себя 192 линии растений.

В то же время в связи с бурным развитием коммерческой биотехнологии возникла потребность в оценке биологических и экологических рисков. Особенно это актуально в случае использования ГМО при производстве продуктов питания. В странах Европейского

союза законодательно введены строгие ограничения по выращиванию трансгенных культур и обязательная маркировка продуктов питания на присутствие трансгенных добавок, если их доля в составе продукта превышает 0,9%. В большинстве других развитых стран также введены требования маркировки продуктов питания при превышении порогового содержания ГМО. Аналогичная нормативная база, необходимая для организации и проведения эффективного надзора за пищевыми продуктами, содержащими ГМ-компоненты, выработана и в России. С 12.12.2007 г. в Российской Федерации, в соответствии с поправками в Федеральный закон от 7.02.1992 № 2300-1 «О защите прав потребителей», предельное, не требующее маркировки содержание ГМО в продуктах питания составляет, как и в странах ЕС, 0,9%. Продукты, в которых содержание ГМО больше этого значения, подлежат обязательной маркировке. Вышеуказанная норма введена как для защиты прав потребителей, так и для соответствия требованиям ЕС по этикетированию ГМ-содержащих пищевых продуктов.

Еще в 2003 году, впервые в мире, в России был разработан (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН совместно с Институтом молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН) и утвержден в качестве национального стандарта РФ (ГОСТ Р 52174-2003) метод идентификации трансгенных последовательностей ДНК на основе гидрогелевых биологических микрочипов (биочипов). Процедура анализа включает в себя мультиплексную амплификацию фрагментов векторных конструкций и маркерных генов, использованных

© 2012г. Вершинкин Д.А., Гетман И.А., Чижова С.И., Грядун Д.А., Михайлович В.М., Заседателев А.С., Романов Г.А.

* **Автор для переписки:**

Вершинкин Данила Александрович
научный сотрудник Института физиологии растений
им. К.А. Тимирязева РАН
Тел.: +7 (499) 231-83-88
E-mail: dva1981@rambler.ru

в качестве трансгенных мишеней, с последующей гибридизацией полученных фрагментов на олигонуклеотидном биочипе.

Рассматриваемый метод позволяет выявлять трансгенную ДНК с высокой чувствительностью (от 0,5%). Такая чувствительность полностью удовлетворяет требованиям к предельному (для маркировки) содержанию ГМО в продуктах питания и сырье в России и ЕС и дает возможность исключить из дальнейшего рассмотрения пищевые объекты с низким и сверхнизким их содержанием, которые, согласно действующему законодательству, не подлежат маркировке. С помощью этого метода на данный момент можно идентифицировать сразу 10 фрагментов трансгенных элементов: промоторов (NptII, 35S CaMV, 35S FMV, Act1), терминаторов (Nos, 35S CaMV, RbcS, Ocs) и маркерных генов (Bar, Gus), что дает возможность контролировать порядка 80% ГМ-культур, используемых в коммерческой биотехнологии, и 100% ГМ-линий, разрешенных для использования в Российской Федерации. В дальнейшем в связи с увеличением количества используемых на практике детерминант трансгенности планируется

расширять набор детектируемых с помощью биочипа трансгенных элементов.

Разработанный метод высокотехнологичен и не требует значительных затрат труда персонала. Мультиплексная амплификация занимает не более 2,5 часов. Гибридизация на биочипе может проходить без участия сотрудников, что позволяет проводить ее в нерабочее время, например, в течение ночи. Анализ результатов проводится в автоматическом режиме с использованием специализированного программного обеспечения. Всем этим данный метод выгодно отличается от альтернативных методов обнаружения ГМО. Метод нашел активное применение для мониторинга наличия ГМ-продуктов в торговых сетях Московского региона.

Работа выполняется при поддержке Программы Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития», подпрограмма «Динамика и сохранение генофондов».

Материалы Международной конференции «Биология – наука XXI века» (Москва, 24 мая 2012 г.).

IDENTIFICATION OF GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS WITH HYDROGEL BIOLOGICAL MICROCHIPS

D.A. VERSHINKIN¹, I.A. GETMAN¹, S.I. CHIZHOVA¹, D.A. GRYADUNOV²,
V.M. MIHAYLOVICH², A.S. ZASEDATELEV², G.A. ROMANOV¹

¹ *K.A. Timiryazev Institute of Plant Physiology RAS;*

² *V.A. Engelhardt Institute of Molecular Biology RAS, Moscow*

Overview of using their own data. The advantages of author identification method of genetically modified organisms by biological hydrogel microchips are considered. Multiplex amplification takes about 2.5 hours. Analysis of the results is performed automatically using specialized software. This feature of the method compares favorably with alternative methods for the detection of GMOs. The method has found a practical application for monitoring the presence of GM products.

Keywords: hydrogel biological microchips, genetically modified organisms, identification methods.

ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПРИРОДА СВОЙСТВ ПРОДУКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ И ПУТИ СОЗДАНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ СЕЛЕКЦИИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ УРОЖАЕВ

В.А. ДРАГАВЦЕВ*

Агрофизический научно-исследовательский институт РАСХН, Санкт-Петербург

Анализируется место и значение созданной с участием автора теории эколого-генетической организации количественных признаков (ТЭГОКП). Главное положение этой теории гласит: при смене лимитирующего рост растений фактора внешней среды меняется спектр и число генов, детерминирующих один и тот же количественный признак (КП). В рамках такого подхода расшифрованы механизмы формирования и созданы методы прогноза: 1) эффектов взаимодействия генотип-среда, 2) трансгрессий, 3) экологически зависимого гетерозиса, 4) знаков и уровней генотипических и экологических корреляций, 5) сдвигов доминирования, 6) гомеостаза продуктивности, 7) нормы реакции. Созданы методы управления амплитудой генотипической изменчивости КП и числом генов, «выходящих» на КП. Показано, что эколого-генетическая природа сложного КП не может быть описана языками менделевской, биометрической и молекулярной генетики. Только язык ТЭГОКП строго описывает поведение сложных КП в эволюции и селекции.

Ключевые слова: продуктивность растений, генетические и средовые взаимодействия, лимитирующие рост растений факторы внешней среды.

В период 1984–2012 гг. группой исследователей была создана теория эколого-генетической организации количественных признаков (ТЭГОКП) [2, 3] и развиты теоретически и экспериментально 24 следствия из нее [1, 4, 7, 8]. Главное положение теории: при смене лимитирующего рост растений фактора внешней среды (лим-фактора) меняется спектр и число генов, детерминирующих один и тот же количественный признак (КП). Показано, что признаки «интенсивность транспирации» и «интенсивность фотосинтеза» в течение суток детерминируются поочередно двумя и тремя разными спектрами генов, соответственно.

Механизм этого явления сейчас стал вполне очевиден. Известно [9], что общее количество генов, экспрессируемых в клетках человека, около 24000, из которых 11000 экспрессируются в клетках любого типа. Если этот принцип справедлив для растений, то очень легко объяснить результаты следующих опытов. Если два сорта пшеницы — один с геном *Lr* (устойчивости к бурой ржавчине), другой — без этого гена — высадить на полянке, зараженной бурой

ржавчиной, то у первого сорта только продукт одного гена *Lr* — фитоантисипин — будет «подпирать» признаки продуктивности, а у второго сорта эти признаки будут развиты очень слабо. При скрещивании этих сортов на фоне бурой ржавчины в поколении F₂ мы получим расщепление по признакам продуктивности 3:1 — результат влияния продукта одного гена, хотя параллельно с ним экспрессируются тысячи других генов. На фоне без ржавчины моногенная детерминация признаков продуктивности исчезает, их наследование становится полигенным. Таким образом, лим-фактор среды «заставляет» влиять на признак продукты тех генов, которые обеспечивают наибольшую адаптивность данного генотипа к данному лим-фактору.

Г. Кэксер в своем докладе на симпозиуме в Бристольском университете в 1959 году подчеркнул: «Я, конечно, знаю, что вся генетика основана на предположении о высокой точности и воспроизводимости действия генов. Такое ложное предположение могло возникнуть из-за того, что нет никаких доказательств, подтверждающих, что в генетических экспериментах измеряется именно первичное действие генов... Результаты развития могут определяться не генами, а кинетической структурой системы» [5, с. 61]. И далее: «В процессе индивидуального развития [а свойства продуктивности не наследуются, а развиваются в онтогенезе — авт. статьи] гены следует рассматривать не как

© 2012 г. Драгавцев В.А.

* Автор для переписки:

Драгавцев Виктор Александрович
академик РАСХН

Агрофизический НИИ Россельхозакадемии,
195220 Санкт-Петербург, Гражданский просп., 14

диктаторов, а скорее как государственных служащих, выполняющих свою работу в рамках определенных традиций» [5, с. 63].

ТЭГОКП подтвердила позицию Г. Кэксера. Клетку растения можно сравнить с осажденной крепостью, в которой работают бригады скромных оружейных мастеров (генов). Одна бригада делает винтовки, другая — пулеметы, третья — пушки, четвертая — пули и снаряды. Но какие продукты этих оружейников будут применены при обороне крепости — это определяет противник (конкретный лим-фактор среды). Если на крепость наступает пехота — стреляют винтовки, если конница — пулеметы, если танки — то пушки. Блоки генов (оружейные бригады) — это не генералы, отдающие жесткие приказы, какой величины должен быть признак продуктивности, а скромные мастера, делающие свой оружейный продукт, который либо «выходит» на борьбу с противником (лим-фактором среды), либо нет — это определяется только спецификой противника, то есть спецификой лим-фактора среды.

Главные следствия из ТЭГОКП — расшированы механизмы формирования и созданы методы прогноза:

- эффектов взаимодействия генотип-среда (ВГС);
- трансгрессий;
- экологически зависимого гетерозиса;
- знаков и уровней генотипических и экологических корреляций;
- сдвигов доминирования;
- гомеостаза продуктивности;
- нормы реакции.

Созданы методы управления амплитудой генотипической изменчивости КП и числом генов, «выходящих» на КП. Показано, что эколого-генетическая природа сложного КП не может быть описана языками менделевской, биометрической и молекулярной генетики. Только язык ТЭГОКП строго описывает поведение сложных КП в эволюции и селекции.

Уровни продуктивности и урожая растений определяются не генами КП, а эффектами ВГС, которые являются эмерджентными свойствами высоких уровней организации жизни (онтогенетический, популяционный, фитоценотический) и отсутствуют на молекулярном уровне. Механизм ВГС подробно изучен с позиций ТЭГОКП и окончательно выяснен. ВГС — это смена наборов продуктов генов, влияющих на признак, при смене лим-фактора внешней среды.

Вопреки прозвучавшим в 1970-х годах призывам академика В.А. Энгельгардта о необходимости разво-

рота биологии от редукционизма к синергизму, история биологии распорядилась по-другому: все главные организационные усилия и средства были брошены в молекулярную биологию и генетику. Это было слепое копирование научных трендов США и Европы, в результате чего в Российской академии наук в бюджете 2012 года на программу «Молекулярная и клеточная биология» (МКБ) выделен 191 млн. рублей. Газета «Поиск» № 3 от 20.01.2012, с. 3 пишет: «Так сложилось исторически, и ни у кого рука не поднимается это положение менять». Академик Г. Месяц (там же) выражает «недоумение постоянными требованиями координатора МКБ академика Г.П. Георгиева еще больше увеличить финансирование программы. Нельзя же выделять на МКБ все конкурсные средства».

Сегодня многие государства дают огромные суммы на геномику и протеомику, но ни в одном НИИ (и в России и за рубежом) пока еще нет ни одной лаборатории, разрабатывающей тему: «Расшифровка механизмов ВГС и создание методов прогноза ВГС для выведения новых урожайных сортов растений». Между тем самый мощный вклад в эколого-генетическое повышение урожаев могут дать только эффекты ВГС.

Если сорт озимой пшеницы Безостая 1 (селекции академика П.П. Лукьяненко) вырастить под Москвой, то он даст 10 ц/га. На Кубани он легко дает до 100 ц/га, то есть ВГС способно повысить урожай на 1000%. Традиционные генетические механизмы аналитической и синтетической селекции (каждый в отдельности) могут поднять урожай лишь на 5–10%. Шведский сорт яровой пшеницы Ранг, интродуцированный в Тюменскую и Омскую области в 1960-е годы, обогнал по урожаю на 30–40% стандартные сорта и был тут же районирован. Эвкалипт из Австралии, привезенный в Уругвай, ускорил свой рост почти в 2 раза. Это — эффекты ВГС. За счет ВГС на Сахалине реализуется гигантизм кормовых трав (в Европе они — по колено, на Сахалине скрывают всадника с лошастью).

ТЭГОКП показала, что традиционные подходы молекулярной генетики (MAS, QTL) вряд ли смогут серьезно помочь эколого-генетическому приращению урожая в процессе селекции, тем более, что генетики, развивая в течение 147 лет (от Г. Менделя) свою науку, так и не нашли специфических генов продуктивности, величины урожая, горизонтального иммунитета, гомеостаза урожая (пластичности сорта), засухо-, зимо-, жаро-, холодоустойчивости и т.д., не локализовали их, не выделили, не клонировали, не секвенировали и не определили их продукты. Причины этого объяснил

крупнейший молекулярный генетик Гюнтер Стент [6] еще в 1974 году: «Поиски «молекулярного» объяснения сознания являются напрасной тратой времени, поскольку физиологические процессы, ответственные за это ощущение, задолго до того, как будет достигнут молекулярный уровень, распадутся до обычных рабочих реакций, не более или менее удивительных, чем процессы, происходящие, например, в печени».

Хотя с ним и не согласен директор Курчатовского центра М.В. Ковальчук: «Для изучения природы сознания необходимо понимание молекулярных процессов», однако все знания системной биологии сегодня говорят только в пользу Г. Стента. Недаром США выделили в 2012 году на программу «Коннектом» (расшифровку полной структуры нейронных связей и их лабильных сдвигов между 100 млрд. нейронов в мозгу человека) миллионы долларов. «Коннектом» — более амбициозный проект, чем «Геном человека», а ведь по сути — это изучение феномена ВГС — лабильной структуры связей между нейронами под воздействием внешних факторов и отнюдь не на молекулярном уровне («Поиск», № 4, от 27.01.2012).

Подобно тому как невозможно изучать сознание на молекулярном уровне, невозможно изучать на том же уровне самый мощный «рычаг» повышения урожая растений — ВГС, которое бесследно исчезает на молекулярном уровне, подобно сознанию, являясь эмерджентным свойством, возникающим при взаимодействии продуктов генов с лабильными в течение суток, недель, месяцев лим-факторами среды и только на высоких уровнях организации жизни: организменном, популяционном, экологическом, фи-тоценоотическом.

Все генетические операции с «большими» генами Г. Менделя, включая трансгеноз, способны помочь повышению продуктивности и урожая только в тех случаях, когда «большой» ген в строго определенной среде «выходит» на детерминацию свойства продуктивности. К сожалению, менделевских генов в геномах растений найдено очень мало — всего 1–3% от суммарного объема генов родового генома. Продукты оставшихся 97% генов находятся в сложнейших взаимодействиях друг с другом, но главное — с меняющимися лим-факторами внешней среды.

У трансгеноза, который сегодня может работать только с «большими» генами Г. Менделя, нет мощных стратегических перспектив создать надежные молекулярно-генетические технологии управления сложными, экономически важными КП. Такие технологии создала

ТЭГОКП, и они уже успешно работают в более чем 30 российских и зарубежных генетических и селекционных центрах.

Литература

1. Драгавцев В.А. Эколого-генетический скрининг генофонда и методы конструирования сортов с/х растений по урожайности, устойчивости и качеству. — СПб.: Изд. ВИР, 1998. — 52 с.
2. Драгавцев В.А., Литун П.П., Шкель Н.М. и др. Модель эколого-генетического контроля количественных признаков растений // Доклады АН СССР. — 1984. — Т. 274. — № 3. — С. 720–723.
3. Драгавцев В.А., Цильке Р.А., Рейтер Б.Г. и др. Генетика признаков продуктивности яровых пшениц в Западной Сибири. — Новосибирск: Изд. «Наука» СО АН, 1984. — 230 с.
4. Кочерина Н.В., Драгавцев В.А. Введение в теорию эколого-генетической организации полигенных признаков растений и теорию селекционных индексов. — СПб.: АФИ, изд. Центр «Дон Боско», 2008. — 86 с.
5. Кэксер Г. Кинетические модели развития и наследственности / В сб.: Моделирование в биологии. — М.: ИЛ, 1963. — С. 42–64.
6. Стент Г. Молекулярная генетика. Пер. с англ. Зографа Ю.Н., Ильиной Т.С., Никифорова В.Г. / Под ред. и с предисловием Алиханяна С.И. — М.: Мир, 1974. — 536 с.
7. Теория эколого-генетической организации количественных признаков / В кн.: Толковый словарь терминов по общей и молекулярной биологии, общей и прикладной генетике, ДНК-технологии и биоинформатике. — М.: Академкнига; Медкнига, 2008. — Т. 2. — С. 308.
8. Чесноков Ю.В., Почепня Н.В., Бёрнер А., Ловассер У., Гончарова Э.А., Драгавцев В.А. Эколого-генетическая организация количественных признаков растений и картирование локусов, определяющих агрономически важные признаки у мягкой пшеницы // Доклады РАН. — 2008. — Т. 418. — № 5. — С. 1–4.
9. Alberts B., Bray D., Lewis Ralf M., Roberts K., Watson J. Molecular biology of the cells / Ed. by Robertson M. et al. 3rd ed. — Garland, New York, 1994. — 1352 p.

Материалы Международной конференции «Биология — наука XXI века» (Москва, 24 мая 2012 г.)

ECOLOGICAL AND GENETIC NATURE OF THE PROPERTIES OF PLANT PRODUCTIVITY AND WAYS TO CREATE INNOVATIVE TECHNOLOGIES TO IMPROVE CROP BREEDING

V.A. DRAGAVTSEV

Agrophysical Research Institute of Agricultural Sciences, St. Petersburg

Examines the place and importance created with the author of the theory of ecological and genetic organization of quantitative traits (TEGOQT). The main aspects of this theory states that when you change the limiting plant growth factor environment is changing the range and the number of genes that determine the same quantitative trait (QT). Under this approach, deciphered the mechanisms of formation and created forecasting methods: 1) the effects of genotype-environment interactions, 2) transgressions, 3) environmentally dependent heterosis, 4) characters and levels of genotypic and environmental correlations, 5) shifts of dominance, 6) productivity homeostasis, 7) reaction norms. Methods have been developed for controlling the amplitude of genotypic variability QT and number of genes, «leaving» at QT. Shown that environmental and genetic nature of complex QT can not be described by language of Mendelian, biometric and molecular genetics. Only the language TEGOQT strictly describes the behavior of complex QT in evolution and breeding.

Keywords: plant productivity, genetic and environmental interactions, limiting plant growth environment factors.

НОВЫЕ ГОРИЗОНТЫ ПРОИЗВОДСТВА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НУТРИЕНТОВ

Е.Г. БОРИСЕНКО*, К.В. ГОРИН, Е.А. БОРИСЕНКО, НГУЕН ЧЫОНГ ЗАНГ, ЧАН ВАН ТИ,
М.С. КАНОЧКИНА, Л.А. ГУЛИМОВА

*ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств»
Министерства образования и науки Российской Федерации, Москва*

Обзор с использованием главным образом собственных данных. Рассматривается ряд новых подходов к производству функциональных нутриентов по технологическому, техническому, нутрициологическому, микроэкологическому и антиинфекционному направлениям.

Ключевые слова: пищевая биотехнология, функциональные нутриенты, производство.

Вопрос о том, как производить высокоценный белок для быстрорастущего человечества (менее 2 млрд. в 1900 году и 7 млрд. сегодня), становится все более актуальным, особенно в целом ряде развивающихся стран.

Население Юго-Восточной Азии очень эффективно обогащает рисовые рационы человека с помощью белковых соусов из микробных культур на растительном сырье. В качестве продуцентов микробной биомассы чаще всего используются сложные ассоциации из мицелиальных грибов, дрожжей, актиномицетов и бактерий, которые выращивают на увлажненных твердофазных субстратах, прежде всего, сахаристых и крахмалистых. Однако в традиционных технологиях этого региона процесс длится достаточно долго (иногда до 2–3 недель) да и состав получаемых продуктов весьма нестандартный.

Наша работа в принципе близка азиатскому варианту, но в ней сформировался ряд новых специфических направлений.

Технологическое направление. Ввиду того, что микрофлора натурального молока животных и человека очень важна при формировании микробиоценозов желудочно-кишечного тракта, именно в этом субстрате мы искали потенциальные продуценты микробной биомассы на растительном сырье. Из натурального молока разных

животных и человека на агаровых средах очень легко выделяются чистые культуры молочнокислых бактерий. На стерильных отрубях, увлажненных натуральным молоком с добавлением антибактериальных антибиотиков, довольно часто обнаруживаются дрожжи, активно накапливающие биомассу как на отрубях, так и на различных твердых растительных субстратах (зеленая растительная масса, сено, солома, жомы, шроты, зерно, отходы его переработки и т.п.). Из полученного микробного материала мы получили более 200 чистых дрожжевых культур (в том числе 70 из женского грудного молока).

Самыми продуктивными оказались выделенные из грудного молока дрожжи рода *Pichia*, которые очень хорошо ассоциируются с лактобактериями, как свежесделенными, так и с их производственными культурами.

Техническое направление. Мы ни в коем случае не отказываемся от традиционного глубинного культивирования микроорганизмов с целью накопления биомассы. Однако твердофазное культивирование очень рационально для быстрого наращивания производства дополнительного белка, прежде всего, в развивающихся странах. Нами разработана для этих целей оригинальная модель крупнотоннажного ферментационного оборудования для твердофазного и твердофазно-глубинного культивирования микроорганизмов с высокой степенью защиты от посторонней микрофлоры. Мы готовы строить и испытывать эту систему совместно с заинтересованными структурами.

В этих растительных установках дрожже-бактериальные ассоциации засевают на стерильные, чаще комплексные увлажненные субстраты (влажность 50–70%), инкубируют в аэробных условиях 48 часов

© 2012 г. Борисенко Е.Г., Горин К.В., Борисенко Е.А., Нгуен Чыонг Занг, Чан Ван Ти, Каночкина М.С., Гулимова Л.А.

* **Автор для переписки:**

Борисенко Евгений Георгиевич

доктор технических наук, профессор

Московский государственный университет пищевых производств
Минобрнауки России

125080 Москва, Волоколамское шоссе, 11.

при температуре 30 ± 2 °С. Полученные твердофазные культуры (полуфабрикаты с содержанием $5-15 \times 10^9$ клеток дрожжей/г и 10^8-10^9 клеток/г лактобактерий) используют как нутриенты непосредственно или после высушивания при низких температурах. Вариантом технологии является разбавление их в 5–7 раз сахаристыми жидкостями и анаэробная глубинная ферментация 48–72 часа при температуре 30 ± 2 °С с получением жидкой комплексной культуры, в которой количество дрожжей падает до 10^7-10^8 клеток/см³, а количество лактобактерий нарастает до $10^{11}-10^{12}$ клеток/см³. Лактобактерии формируют специфические органолептические свойства получаемых продуктов. Фракционирование жидких культур на ситах позволяет получать новые напитки и твердые влажные добавки к кормам с живой микрофлорой (симбиотики). Высокотемпературная сушка, инактивирующая микроорганизмы, дает возможность получать различные продукты со свойствами пребиотиков.

Нутрициологическое направление. Нарастание содержания белка и незаменимых аминокислот формируется преимущественно в ходе аэробной ферментации. Например, на этом этапе в отрубях содержание белка по сумме аминокислот увеличивается от 14–15 до 19–20% (то есть на 25% от исходного содержания белка). Ферментация зеленой биомассы кукурузы увеличивает суммарное содержание аминокислот с 7,1 до 9%, то есть тоже примерно на 25%. Нарастание содержания разных незаменимых аминокислот составляет от 17 до 36%, и тем самым белок новых продуктов по химической характеристике достигает стандарта ФАО/ВОЗ на полноценный белок.

Напитки, получаемые из разных твердых субстратов на первом этапе ферментации (сено, биомасса кукурузы, сахарного тростника, выжимки арбуза, ананаса) и жидких сахаристых продуктов на втором этапе (арбузный, ананасовый, плодовые, овощные соки, сахарный раствор), содержат 9–11% сухих веществ, в которых на белок приходится около 20%. Такие напитки по содержанию углеводов и белков близки к животному аналогу — обезжиренному молоку, что позволяет нам для обозначения нового продукта использовать термин «микробное молоко (Micromilk)». Количество накапливаемой микробной биомассы на растительном сырье по предлагаемой технологии в 4–5 раз выше, чем в анаэробном процессе в рубце жвачных животных, а это открывает возможность по-новому решать проблему дефицита белка.

По довольно давним прогнозам ФАО/ВОЗ, в начале XXI века суммарная мировая потребность в кормовом и пищевом белке определена в 65 млн. тонн в год.

Переработка всего объема растительного сырья только в России (около 3 млрд. тонн в год, как сельскохозяйственного, так и дикорастущего) теоретически может давать весь объем необходимого миру дополнительного высокоценного белка.

Микроэкологическое направление. Собственная микрофлора желудочно-кишечного тракта производит особо ценные вторичные нутриенты, формирующие до 25–30% биомассы макроорганизма. Новые микробные продукты являются активными ее стимуляторами. Получаемые в настоящей технологии сухие пребиотики в экспериментах *in vivo* на ослабленных животных (собаки, норки) за 2 недели приема до 100 раз повышают содержание бифидо- и лактобактерий в фекалиях. В гастроэнтерологической клинике у людей с циррозом печени за такой же период более заметно повышается титр бифидобактерий (10–15 раз), нежели лактобактерий (5–10 раз). Особо демонстративная позитивная динамика функций желудочно-кишечного тракта при систематическом потреблении этих продуктов отмечена у лиц с экстремальными условиями труда (сотрудники полярных станций, профессиональные спасатели, работники вредных химических производств).

Антиинфекционное направление. Эксперименты *in vitro* по введению дрожже-бактериальных продуктов в растущие жидкие культуры токсигенных стафилококков (*Staphylococcus aureus* FRI 722, S6-715H) показали, что инактивированные комплексные препараты, так же, как и чистые живые культуры дрожжей активируют рост стафилококков и их токсинообразование, а живые комплексные культуры подавляют и рост и токсинообразование стафилококков. Следовательно, живые лактобактерии микробных ассоциаций придают им еще и определенные антибактериальные свойства, что может помочь более эффективно, чем в Западной Европе в 2011 году, бороться с бактериальными токсикоинфекциями. К сожалению, мы не имели условий изучить взаимодействие наших ферментированных продуктов с высокотоксигенными энтеробактериями, но в такой работе участвовать готовы.

Таким образом, мы считаем, что развитие вышеприведенных направлений может сформировать для человечества практически неограниченные возможности в производстве функциональной пищи и кормов. Мы готовы к сотрудничеству по всем затронутым в настоящей работе направлениям с любыми заинтересованными лицами и организациями как в России, так и за рубежом.

Материалы Международной конференции «Биология — наука XXI века» (Москва, 24 мая 2012 г.).

NEW HORIZONS FOR PRODUCTION OF FUNCTIONAL NUTRIENTS

E.G. BORISENKO, K.V. GORIN, E.A. BORISENKO, NGUYEN TRUONG ZHANG, TRAN VAN TU,
M.S. KANOCHKINA, L.A. GULIMOVA

*Moscow State University of Food Production,
Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Moscow*

Overview using mostly its own data. Addresses a number of new approaches to the production of functional nutrients for technological, technical, nutritiological, microecological and anti-infective areas.

Keywords: food biotechnology, functional nutrients, production.

ПОЛУЧЕНИЕ АВИАЦИОННОГО ТОПЛИВА ИЗ БИОСПИРТОВ ДЛЯ СОВРЕМЕННЫХ ДВИГАТЕЛЕЙ

М.А. БЕШКАРЕВА*, В.Ф. ТРЕТЬЯКОВ

ФГБУН «Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева» РАН, Москва

В обзоре с включением собственных данных обсуждается проблема получения авиационного топлива для современных двигателей из биоспиртов. Авторами разработан метод каталитической конверсии биоэтанола на цеолитных катализаторах типа HZSM-5 с получением жидкой фракции, содержащей более 50% ароматических углеводородов, гидрирование которой позволяет получать углеводородные компоненты, соответствующие составу углеводородных моторных топлив различного назначения. То есть созданы опытные образцы жидкого синтетического углеводородного топлива для авиационных газотурбинных двигателей из биосырья.

Ключевые слова: биотопливо, биоспирты, авиационное топливо.

В мире в связи с растущим потреблением моторных топлив и сокращением нефтяных запасов ведется эффективный поиск альтернативы традиционному углеводородному сырью. При этом резко повысился интерес к возобновляемым источникам энергии в связи с проблемой глобального потепления и принятием многими странами Киотского протокола, ограничивающего объем выбросов диоксида углерода в атмосферу Земли. Используя нефть, уголь, природный газ и горючие сланцы, достичь сокращения выбросов диоксида углерода невозможно, так как в любом случае он выделяется при сжигании или иных типах конверсии входящего в их состав углерода.

Коммерческий авиационный транспорт на сегодняшний день несет ответственность за выбросы диоксида углерода, полученного при сжигании авиационного топлива, в размере 700 млн. тонн, что составляет 2,31% от общего антропогенного диоксида углерода. Прогнозы роста авиационного парка показывают, что выбросы диоксида углерода, осуществляемые быстро растущим сектором, достигнут более 1 млрд. тонн к 2025 году.

Для использования реактивных двигателей 5 поколения подходят только высокоплотные топлива. Получить такие виды топлива из нефти невозможно, поэтому в США принято решение использовать для

нужд военно-воздушных сил керосины с повышенной плотностью, получаемые из биосырья.

На сегодняшний день биоспирты рассматриваются как перспективный сырьевой источник для получения различных углеводородов, в том числе олефинов, толуола, ксилола, алканов и моторных топлив различного назначения.

С точки зрения экологии биоспирты как возобновляемое сырье являются наилучшим источником углеводородов по сравнению с углем или нефтью. Биоспирты (биоэтанол и биобутанол) могут быть получены посредством ферментации из биосырья любого происхождения. Авиационное топливо, полученное из биоспиртов, не приводит к увеличению выбросов диоксида углерода в атмосферу Земли.

В настоящее время во всем мире уделяют большое внимание альтернативным энергоносителям. Авиакомпания Lufthansa (Германия) начала испытания биотоплива на регулярных рейсах. В одном из двигателей самолетов будут использовать смесь обычного топлива и биокеросина (производится из чистой биомассы без примесей, переработанной в жидкость и состоящей из грибов семейства рыжиковых, животных жиров и семян растений) в соотношении 50:50. Авиакомпания TAM (крупнейшая авиакомпания Бразилии) совместно с Airbus провели первый тестовый полет на биотопливе, полученном из ятрофы. Королевские ВВС Нидерландов продемонстрировали вертолет Apache на биотопливе (50/50 устойчивого биокеросина и стандартного реактивного топлива). Авиакомпания Iberia первой в Испании выполнила полет с использованием биотоплива на самолете Airbus A320 по маршруту из

© 2012 г. Бешкарева М.А., Третьяков В.Ф.

* **Автор для переписки:**

Бешкарева Мария Андреевна

Институт нефтехимического синтеза им. А.В. Топчиева, РАН

119991 Москва, Ленинский просп., 29

Мадрида в Барселону. Полет был выполнен с использованием смеси традиционного авиационного топлива (75%) и биотоплива (25%), полученного из рыжиков.

В России пробные опыты получения авиационного топлива из биоэтанола и смеси биоэтанола и биобутанола были проведены в Институте нефтехимического синтеза (ИНХС) им. А.В. Топчиева РАН.

Нами разработан метод каталитической конверсии биоэтанола на цеолитных катализаторах типа HZSM-5 с получением жидкой фракции, содержащей более 50% ароматических углеводородов, гидрирование которой позволяет получать углеводородные компоненты, соответствующие составу углеводородных моторных топлив различного назначения.

После проведения процесса гидрирования количество ароматических углеводородов снижается, в зависимости от глубины гидрирования, до 12–21%. При этом в конечном продукте практически отсутствует бензол. Следовательно, полученная фракция после гидрирования может использоваться как реактивное или автомобильное топливо.

В результате сравнения фактических численных значений нормируемых техническими требованиями основных показателей реактивного топлива, получаемого из нефти, и соответствующих показателей полученного образца реактивного топлива из биоэтанола показано, что опытный образец соответствует нормативным требованиям к реактивному топливу для авиационных газотурбинных двигателей.

Таким образом, впервые в России по техническим требованиям Центрального института авиационного моторостроения (ЦИАМ) в ИНХС им. А.В. Топчиева РАН совместно с ЦИАМ и Московским государственным университетом тонких химических технологий (МИТХТ) им. М.В. Ломоносова созданы опытные образцы жидкого синтетического углеводородного топлива для авиационных газотурбинных двигателей из биосырья.

Материалы Международной конференции «Биология – наука XXI века» (Москва, 24 мая 2012 г.).

PRODUCTION OF JET FUEL FROM BIO ALCOHOL FOR MODERN ENGINES

M.A. BESHKAREVA, V.F. TRETYAKOV

A.V. Topchiev Institute of Petrochemical Synthesis RAS, Moscow

In a review of the inclusion of self-reported data is discussed problem of production of jet fuel from bioalcohol for modern engines from bio alcohol. The authors developed a method for the catalytic conversion of ethanol on zeolite catalysts such as HZSM-5 to produce a liquid fraction containing more than 50% aromatic hydrocarbons, hydrogenation which produces hydrocarbon components corresponding to the composition of the hydrocarbon motor fuels for different purposes. That is, prototypes of synthetic liquid hydrocarbon fuels from bio raw materials for aircraft gas turbine engines.

Keywords: biofuels, bio alcohol, jet fuel.

ГАЛОФИЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ СЕМЕЙСТВА HALOMONADACEAE ИЗ РАЙОНА ПРОМЫШЛЕННОЙ РАЗРАБОТКИ ВЕРХНЕКАМСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ СОЛЕЙ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ОБЪЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

Л.Н. АНАНЬИНА*, Е.Г. ПЛОТНИКОВА

ФГБУН «Институт экологии и генетики микроорганизмов» Уральского отделения РАН, Пермь

В обзоре с использованием собственных данных обсуждаются перспективы применения в биотехнологии галофильных бактерий семейства *Halomonadaceae* из района промышленной разработки Верхнекамского месторождения солей (Пермский край). Путем скрининга выделенных бактерий этого семейства были выявлены штаммы, перспективные для использования в биотехнологических целях.

Ключевые слова: галофильные бактерии, *Halomonadaceae*, биотехнология.

В настоящее время особое внимание уделяется изучению бактерий «экстремальных» экосистем в связи с их высоким биотехнологическим потенциалом. Примером «экстремальной» экосистемы является район промышленной разработки Верхнекамского месторождения калийно-магниевых солей Пермского края. Поскольку при извлечении и складировании на поверхности отходов производства, основным компонентом которых является галит (более 90% NaCl), специфическим загрязнителем этой экосистемы становится засоление (Еремченко и Лымарь, 2007). Исследования биоразнообразия микробиоценоза и функциональных свойств бактерий района солееразработки, проводимые нами более десяти лет, позволили выделить галотолерантные бактерии-деструкторы (моно)полициклических ароматических углеводородов (Плотникова и др., 2001; 2006; 2011; Ястребова и др., 2009; Anan'ina et al., 2011) и галофильные бактерии, в том числе более 50 изолятов родов *Salinicola* (Ананьина и др., 2007), *Chromohalobacter*, *Halomonas*, *Kushneria* семейства *Halomonadaceae*.

Широко распространенные в микробиоценозах засоленных экосистем разных эколого-географических зон, характеризующихся различными физико-химическими свойствами, бактерии семейства *Halomonadaceae*

заслуживают особого внимания (Arahal and Ventosa, 2006). Бактерии этой таксономической группы не требуют сложных питательных сред и условий культивирования, обладают рядом применимых в биотехнологии свойств. Известны бактерии семейства *Halomonadaceae*, продуцирующие внеклеточные гидролитические ферменты: протеазы, амилазы, липазы, ДНКазы, имеющие достаточно разные возможные варианты использования в различных областях, таких как ферментация продуктов питания, производство кормовых добавок, биомедицина и химическая промышленность (Sanchez-Porro et al., 2003).

В связи с вышесказанным выделенные нами бактериальные культуры были проверены на способность продуцировать внеклеточные гидролитические ферменты. В ходе скрининга были выявлены штаммы, гидролизующие желатин, а также два штамма *Salinicola sp.* BA1 и *Salinicola socius* SMB35, обладающие протеазной, амилазной и липазной активностями и сохраняющие их при культивировании в присутствии 10% хлорида натрия.

Одно из перспективных направлений биотехнологии — это использование представителей семейства *Halomonadaceae* в качестве продуцентов низкомолекулярных органических соединений: осмолитов (совместимые вещества). Основным осмолитом, накапливаемым клетками галомонад в ответ на гиперосмотический стресс, является эктоин (Ventosa et al., 1998; Roberts, 2005). Высокая совместимость с биологическими системами, отсутствие токсичности, стабилизирующие макромолекулы (ферменты, ДНК и РНК, мембраны) свойства и

© 2012 г. Ананьина Л.Н., Плотникова Е.Г.

* **Автор для переписки:**

Ананьина Людмила Николаевна

к.б.н., научный сотрудник,

лаборатория химического мутагенеза

Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН

614081 Пермь, ул. Голева, 13

общее клеткозащитное действие делают эктоин многообещающим кандидатом для применения в различных биотехнологических целях. В настоящее время наиболее широкое практическое применение эктоин находит в косметической промышленности (в частности, в производстве средств по уходу за кожей). Кроме того, особый интерес представляет направление использования эктоина в фармацевтической промышленности и медицине — для консервации биологического материала и увеличения сроков сохранности и эффективности лекарственных препаратов (Lentzen and Schwarz, 2006).

Выделенные нами штаммы были изучены на способность синтезировать эктоин. На первом этапе работ был осуществлен скрининг изолятов путем детекции *ect*-генов, кодирующих ферменты синтеза эктоина, с использованием вырожденных праймеров (Ананьина и Плотникова, 2011). Амплификация привела к наработке ПЦР-продукта у более 30 штаммов родов *Salinicola*, *Chromohalobacter*, *Halomonas* и *Kushneria*. Для подтверждения амплификации нужного фрагмента проведено прямое секвенирование ампликонов с использованием разработанных праймеров на автоматическом секвенаторе Genetic Analyzer 3500xl («Applied Biosystems», США). Последующий сравнительный

анализ полученных нуклеотидных последовательностей с депонированными в публичных базах *ect*-генами с помощью программы Blastn (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) выявил более чем 80% гомологии. На втором этапе определяли внутриклеточную концентрацию эктоина методом ВЭЖХ (Ешлинимаев и др., 2007) у изолятов, на матрице ДНК которых был получен специфический продукт амплификации *ect*-генов. Установлено, что концентрация эктоина варьировала в зависимости от штамма в пределах 0,18–0,67 мкмоль мг⁻¹ сухой массы. Наиболее высоким внутриклеточным содержанием эктоина характеризовались штаммы рода *Salinicola*.

Таким образом, путем скрининга выделенных из района промышленной разработки Верхнекамского месторождения солей бактерий семейства *Halomonadaceae* были выявлены штаммы, перспективные для использования в биотехнологических целях.

Работа поддержана научным проектом молодых ученых УрО РАН №11-4-НП-425 и программой Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» № 01201256872.

Материалы Международной конференции «Биология — наука XXI века» (Москва, 24 мая 2012 г.).

HALOPHILIC BACTERIA OF THE FAMILY HALOMONADACEAE FROM AREA OF INDUSTRIAL DEVELOPMENT VERKHNEKAMSKOYE SALTS DEPOSIT AS PROMISING OBJECTS BIOTECHNOLOGY

L.N. ANANYINA, E.G. PLOTNIKOVA

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch RAS, Perm

The survey, using their own data discussed prospects of application in biotechnology halophilic bacteria of the family *Halomonadaceae* from area of industrial development Verkhnekamskoye salts deposit (Perm region). By screening the isolated bacteria in this family have been identified strains promising for use in biotechnological applications.

Keywords: halophilic bacteria, *Halomonadaceae*, biotechnology.

НЕЙРОЛИПИНЫ – ОСНОВА СОЗДАНИЯ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ БОРЬБЫ С НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

М.Г. АКИМОВ*, М.Ю. БОБРОВ, Н.М. ГРЕЦКАЯ, В.В. БЕЗУГЛОВ

*ФГБУН «Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова»
РАН, Москва*

Рассматривается возможность создания нового поколения лекарственных препаратов для борьбы с нейродегенеративными заболеваниями. Предлагается использовать полифункциональные соединения, построенные на основе нейролипидов, способных воздействовать практически на каждое звено разных стадий нейродегенеративного процесса и являющихся перспективными для разработки новых лекарственных препаратов для профилактической и поддерживающей терапии.

Ключевые слова: нейролипиды, нейродегенеративные заболевания, новое поколение лекарственных препаратов.

Нейродегенеративные заболевания различной природы — большая группа неизлечимых на сегодняшний день болезней, в основе которых лежит гибель нейронов различных областей головного мозга с последующей утратой функции данной области: потерей памяти, способности передвигаться и др. Ключевыми механизмами, за счет которых происходит гибель нейронов, являются энергетический коллапс и неспецифическое повреждение компонентов клетки активными формами кислорода и азота. В свою очередь, отказ системы генерации АТФ клетки может происходить вследствие так называемой эксайтотоксичности, когда избыточный вход кальция приводит к разрушению митохондрий, и за счет гипоксии. Дополнительным повреждающим фактором является развитие воспалительного процесса в зоне поражения. Множественность причин и факторов, определяющих развитие и течение нейродегенеративных заболеваний, затрудняет создание эффективных лекарственных средств и требует разработки новых подходов к дизайну активного компонента.

Предлагаемый нами подход основывается на представлении, что в сильносвязанной системе, которой явля-

ется живой организм, многофакторные процессы могут регулироваться с помощью полифункциональных соединений более успешно и более безопасно, чем с помощью монофункциональных веществ узконаправленного действия. Последние в результате чрезмерного воздействия только на одну выделенную цепочку передачи сигнала могут порождать сильные и нежелательные побочные эффекты за счет ответной реакции информационной сети организма. Напротив, полифункциональные соединения, способные взаимодействовать с различными звеньями информационной сети, вызывают меньше побочных эффектов и, как правило, активируют дополнительные механизмы организма, противостоящие патологическому процессу. Для достижения указанного результата структура создаваемого полифункционального соединения должна содержать фрагменты эндогенных биорегуляторов, участвующих в реализации этих механизмов.

Перспективным классом таких биорегуляторов являются нейролипиды — эндогенные амидные и эфирные производные жирных кислот разной степени ненасыщенности (олеиновой, арахидоновой, докозагексаеновой), взаимодействующие с белками каннабиноидно-ванилоидной системы организма. Структуры природных и синтетических нейролипидов содержат остатки таких биологически активных соединений, как дофамин, серотонин и его производные, серин, гамма-аминомасляная кислота, глицин, гистамин, холин и др. Кроме того, вместо арахидоновой кислоты в состав родственных нейролипидам соединений могут входить простагландины (продукты циклооксигеназной трансформации арахидоновой кислоты).

© 2012 г. Акимов М.Г., Бобров М.Ю., Грецкая Н.М., Безуглов В.В.

* **Автор для переписки:**

Акимов Михаил Геннадьевич

к.х.н., научный сотрудник,

лаборатория оксипептидов Института биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

117997 Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

E-mail: akimovmike@yandex.ru

Согласно результатам наших исследований и данным литературы, действие указанных веществ (нейролипидов) на различные компоненты нейродегенеративной патологии может варьировать и включает в себя следующие эффекты:

- повышение выживания нейронов вплоть до контрольного уровня в условиях эксайтотоксичности — производные дофамина;
- повышение выживания нейронов в условиях гипоксии (показано на переживающих культурах клеток, на переживающих срезах головного мозга и *in vivo* в модели индуцированной фокальной ишемии);
- антиоксидантное действие, в том числе, в условиях окислительного стресса — производные дофамина и серотонина;
- восстановление локомоторной активности у крыс в острой модели болезни Паркинсона — производные дофамина;
- увеличение локального кровотока в головном мозге без влияния на системное артериальное давление — производные ГАМК;

- индукция апоптоза в культурах раковых клеток различного происхождения (глиома, лимфобластома) — производные дофамина;
- переключение воспаления в стадию резольвинга (завершение и ликвидация воспаления) — производные дофамина.

Таким образом, полифункциональные соединения, построенные на основе нейролипидов, способны воздействовать практически на каждое звено разных стадий нейродегенеративного процесса и являются перспективными для разработки новых лекарственных препаратов для профилактической и поддерживающей терапии, а также как средство скорой помощи для снижения или предотвращения повреждений от кратковременного воздействия поражающих факторов.

Работа частично поддержана грантом РФФИ (проект 12-04-00608).

Материалы Международной конференции «Биология — наука XXI века» (Москва, 24 мая 2012 г.).

NEUROLIPINS — THE BASIS OF A NEW GENERATION OF DRUGS TO COMBAT NEURODEGENERATIVE DISEASES

M.G. AKIMOV, M.Yu. BOBROV, N.M. GRETZKY, V.V. BEZUGLOV

M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow

The possibility of development a new generation of drugs to combat neurodegenerative diseases was discussed. Encouraged to use polyfunctional compounds that are based on neurolipins can influence virtually every aspect of the different stages of the neurodegenerative process and are promising for the development of new drugs for prevention and maintenance.

Keywords: neurolipins, neurodegenerative diseases, new generation of drugs.

СПЕЦИФИКА МАРКЕТИНГОВОГО ПРОДВИЖЕНИЯ БИОРЕГИОНА НА ПРИМЕРЕ ЧУВАШСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

О.Т. ЕРГУНОВА*

АНО ВПО «Региональный институт технологии и управления», Новочебоксарск, Чувашская Республика

На примере Чувашской Республики обсуждаются маркетинговые аспекты формирования в ней биорегиона. В соответствии с утвержденным в 2010 году Правительством Чувашской Республики документом — «Стратегия «Чувашия — биорегион до 2020 года» рассматриваются маркетинговые, управленческие и иные механизмы, способствующие развитию данного направления.

Ключевые слова: биорегион, маркетинг, Чувашская Республика.

В работе рассматриваются проблемы повышения конкурентоспособности биорегиона на основе применения принципов маркетинга, исследуются условия, необходимые для формирования маркетингоориентированного механизма управления биорегионом на современном этапе.

Становление и формирование экономики инноваций в регионах Российской Федерации и следовательно, их инновационное развитие возможны только при условии перехода от инноваций как точечного явления к формированию национальной инновационной системы, создаваемой в процессе развития каждого региона. В условиях трансформационной экономики инновационное развитие конкретного региона можно определить как прогрессивное развитие на основе преимущественного использования во всех сферах деятельности имеющихся или вновь создаваемых знаний и вытекающих из них инноваций, Это осуществляется путем интеграции научно-технического потенциала со всеми процессами социально-экономического развития региона за счет реализации эффективной государственной политики стимулирования инновационной активности хозяйствующих субъектов как на федеральном, так и на региональном и муниципальном уровнях с помощью маркетинговых принципов. Однако отсутствие в настоящее время конкретных направлений маркетингового стимулирова-

ния инновационной деятельности в законодательстве и практики применения маркетинговых инструментов существенно сдерживает развитие инновационного потенциала отечественной экономики, снижает уровень ее конкурентоспособности.

На современном этапе биотехнология признана приоритетным направлением развития инновационной экономики и в Российской Федерации. Это отмечено в Концепции долгосрочного социально-экономического развития Российской Федерации на период до 2020 года, в других программных документах и выступлениях руководителей страны. Несмотря на имеющееся отставание в биотехнологии, Россия обладает всеми необходимыми предпосылками и потенциалом, чтобы преодолеть его и войти в число мировых лидеров в области биоиндустрии. Кризисные явления в еще большей степени стимулируют развитие отечественной биоэкономики и позволяют решать такие проблемы, как развитие ресурсодефицитных территорий, повышение занятости, переход на использование возобновляемого сырья и др.

Чувашская Республика является одним из субъектов Российской Федерации, в котором активно поддерживаются и развиваются инновационные механизмы экономики, служащие основой для развития современной биотехнологии. За 2005—2011 годы в соответствии с программой «Развитие в Чувашской Республике био- и нанотехнологий» и Стратегией «Чувашия — биорегион до 2020 года» создана база для развития фундаментальных и прикладных био- и нанотехнологий, коммерциализации разработок, обеспечивающих формирование в Чувашской Республике новых высокотехнологичных отраслей - био- и nanoиндустрии и ее позиционирование на рынке высокотехнологичной продукции.

© 2012 г. Ергунова О.Т.

* **Автор для переписки:**

Ергунова Ольга Титовна

к.э.н., доцент

АНО ВПО «Региональный институт технологии и управления»

429959 Чувашская Республика, Новочебоксарск,

ул. Коммунистическая, 37

E-mail: ergunova-olga@yandex.ru

В условиях жесткой конкуренции и роста издержек одной из предпосылок к формированию положительного имиджа инновационного комплекса территории представляется правильный выбор целей, задач и стратегий маркетинговой деятельности, присущих биорегиону. Именно в рамках регионального маркетинга становится возможным по результатам позиционирования на межрегиональном рынке результатов воспроизводственного процесса региональной экономики в целом — товаров и услуг инновационного комплекса биорегиона — определить уровень востребованности регионального биопродукта, его конкурентоспособность и его место в процессе удовлетворения потребительского спроса на данный продукт. Инновационно-технологический аспект регионального маркетинга предопределяет наличие энергосберегающего подхода к развитию экономики, глубокого использования имеющихся природных ресурсов, формирования высокоинтеллектуального потенциала населения, уровня его

образования, что в итоге приводит к повышению социально-экономического статуса региона и росту уровня жизни населения.

Таким образом, можно заключить, что в рамках регионального маркетинга становится возможным формирование новых направлений в структуре биотехнологического производства, создание которых становится возможным, исходя из исторически сложившейся производственной базы, кадрового потенциала, имеющихся биологических ресурсов и геополитического положения. Следовательно, маркетинг современного биорегиона в качестве основной своей задачи определяет развитие инновационных методов и подходов в развитии биорегиона, ориентированных на возможности внешней среды.

Материалы Международной конференции «Биология — наука XXI века» (Москва, 24 мая 2012 г.).

THE SPECIFICS OF MARKETING PROMOTION BIOREGION ON THE EXAMPLE OF THE CHUVASH REPUBLIC

O.T. ERGUNOVA

ANO VPO «Regional Institute of Technology and Management», Novocheboksarsk, Chuvash Republic

On the example of the Republic of Chuvashia discusses marketing aspects of the formation bioregion in its territory. According to the approved in 2010 by the Government of the Chuvash Republic document — «Strategy «Chuvashia — bioregion to 2020» regarded marketing, management and other mechanisms that contribute to the development of this area.

Keywords: bioregion, marketing, Chuvash Republic.

ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ДЕЛЕНИЯ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

О.А. КОКШАРОВА*, А.Е. ВАСЕТЕНКОВ

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Представлен обзор о генетическом контроле деления цианобактерий в эволюционном плане. Наличие эффективных генетических методов позволяет найти применение цианобактериям в биотехнологии для производства специфических продуктов, включая фотосинтетические пигменты, молекулярный водород и наночастицы; для биodeградации органических загрязнений на поверхности вод и для решения многих других практических задач.

Ключевые слова: цианобактерии, деление, генетический контроль.

Цианобактерии — это фотоавтотрофные бактерии, которые содержат хлорофилл *a* и осуществляют фотосинтез сходным образом с высшими растениями. Цианобактерии представляют собой значительный, но еще малоиспользуемый, ресурс для получения огромного количества различных веществ. Помимо того факта, что цианобактерии являются удобными модельными организмами для фундаментальных исследований молекулярных механизмов фотосинтеза; механизмов устойчивости к стрессовым факторам окружающей среды; клеточной дифференцировки и фиксации атмосферного азота; метаболизма углерода и водорода; клеточного деления, молекулярной эволюции, все яснее становится необходимость разработки прикладных проектов с использованием этих древнейших микроорганизмов. Наличие эффективных генетических методов позволяет найти применение цианобактериям в биотехнологии для производства специфических продуктов, включая фотосинтетические пигменты, молекулярный водород и наночастицы; для биodeградации органических загрязнений на поверхности вод и для решения многих других практических задач.

Изучение генетического контроля клеточного деления цианобактерий может помочь при исследовании молекулярных механизмов деления растительных пластид, их эволюции, а также эволюции эукариотической клетки. Знание механизмов и регуляции клеточного деления цианобактерий важно для экологических и биотех-

нологических аспектов использования этих фотоавтотрофов. Анализ цианобактериальных мутантов лежит в основе стратегии изучения генетики клеточного деления. Высокоэффективный транспозонный мутагенез позволяет идентифицировать новые гены, вовлеченные в процесс клеточного деления. Доступность информации о полных геномных последовательностях многих цианобактерий, бактерий, некоторых растений и водорослей способствует проведению сравнительного геномного анализа.

Сравнительный геномный анализ позволил установить, что некоторые цианобактериальные гены, вовлеченные в контроль клеточного деления, имеют гомологов среди цианобактерий, зеленых водорослей и высших растений, другие гены специфичны только для цианобактерий, третьи имеются только у бактерий. Для изучения деления цианобактериальной клетки могут быть применены методы молекулярной генетики и сравнительной геномики. Использование транспозонного мутагенеза позволило выявить новые важные гены, *ftn2* и *ftn6*, ответственные за ключевые этапы клеточного деления цианобактериальной клетки (Koksharova O.A., Wolk C.P., 2002). Ген *ftn2* кодирует белок, состоящий из 631 аминокислоты и имеет наибольшее сходство с предсказанными продуктами других цианобактерий и растений, тогда как ген *ftn6* кодирует 152-аминокислотный белок, специфичный только для цианобактерий. Растительный ортолог *Ftn2* в *Arabidopsis*, *Arc6*, имеет хлоропластный транзитный пептид (и его роль в делении хлоропластов была впоследствии показана (Vitha et al., 2003)).

Использование сравнительной геномики позволило обнаружить некоторые новые общие цианобактериальные и пластидные гены, вовлеченные в деление. Пластиды произошли от цианобактериального симбионта

© 2012 г. Кокшарова О.А., Васетенков А.Е.

* **Автор для переписки:**

Кокшарова Ольга Алексеевна

в.н.с., доктор биологических наук

НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова

Тел.: +7 (495) 939-31-62

свыше 1.2 миллиарда лет назад. В течение установления эндосимбиотических отношений большинство генов было потеряно цианобактериальным геномом и многие из них получили новое место локализации в ядерном геноме посредством эндосимбиотического генного переноса. Среди них были обнаружены некоторые гены/белки, отвечающие за деление хлоропластов: Arc6; ARTEMIS и GC1 (также называемый AtSulA), белки рtCpn60 α и рtCpn60 β . Более глубокому пониманию молекулярной

биологии цианобактериального клеточного деления будет способствовать комплексный подход, включающий в себя сочетание методов генетики, биохимии, геномики, транскриптомики и протеомики.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант 11-04-00774).

Материалы Международной конференции «Биология – наука XXI века» (Москва, 24 мая 2012 г.).

EVOLUTIONARY ASPECTS OF THE GENETIC CONTROL OF THE DIVISION OF CYANOBACTERIA

O.A. KOKSHAROVA, A.E. VASETENKOV

M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow

Provides an overview of the genetic control of the division of cyanobacteria in evolutionary terms. The availability of effective genetic methods can be used cyanobacteria in biotechnology for the production of specific products, including photosynthetic pigments, molecular hydrogen and nanoparticles, for biodegradation of organic contaminants on the surface of the water, and for many other practical problems.

Keywords: cyanobacteria, division, genetic control.

СОБЫТИЯ 2012 ГОДА

К 125-летию со дня рождения Н.И. Вавилова



2012 год является юбилейным для Николая Ивановича Вавилова — 25 ноября исполняется 125 лет со дня его рождения. Надо сказать, что он был отмечен целым комплексом мероприятий по всей России, в которых не только отдавалась формальная дань уважения к выдающемуся ученому, но и проявлялось глубокое почитание его личности представителями разных поколений. Если его 100-летний юбилей 1987 года, проведенный с организационной мощью государственного аппарата СССР, был свидетельством начальной фазы искупления греха страны перед памятью своего незаслуженно отвергнутого сына (к тому же 1987 год был объявлен ЮНЕСКО Годом Вавилова), то нынешнее мемориальное мероприятие уже говорит о широком признании дел и жертвенного научного подвига исследователя, «сеятеля и хранителя» своего отечества (как удачно выразились строители юбилея в научной библиотеке в г. Благовещенске на Амуре), о переходе его имени в народную, сердечную, «генетическую» память.

На государственном уровне способствовало проведению мероприятий распоряжение Правительства РФ от 10.09.2012 N 1651-р «О праздновании 125-летия со дня рождения Н.И. Вавилова».

Безусловно, центральные юбилейные мероприятия были сконцентрированы вокруг учреждений, носящих имя Вавилова: ВИР им. Н.И. Вавилова РАСХН (Санкт-Петербург), Институт общей генетики им. Н.И.

Вавилова РАН (ИОГЕН) (Москва), Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова (СГАУ). К их числу следует отнести и Московскую сельскохозяйственную академию им. К.А. Тимирязева, которая хотя и носит имя этого ученого и в разное время называлась «Разумовкой», «Тимирязевкой», но по духу своему уже давно стала и «Вавиловкой» (настолько глубоко здесь чтут память своего воспитанника).

6–9 ноября 2012 г. в Санкт-Петербурге ВИР организовал III Вавиловскую международную конференцию «Идеи Н.И. Вавилова в современном мире» (подробнее см. www.vir.nw.ru/test/index.php). Она прошла в Санкт-Петербургском научном центре РАН. В ней приняли участие более 400 специалистов из 22 стран. Еще ранее в марте ВИРОм была проведена юбилейная конференция аспирантов и молодых ученых.

26–28 ноября в Саратове, в СГАУ им. Н.И. Вавилова прошла Международная научно-практическая конференция «Вавиловские чтения — 2012», посвященная 125-летию со дня рождения Н.И. Вавилова (<http://www.sgau.ru/index.php?id=4212>). Нужно подчеркнуть, что саратовцы постоянно проводят памятные конференции и иные мероприятия в честь Вавилова, причем, вовлекают в них молодежь. Так и на этот раз 28 ноября состоялось заседание студенческого кружка английского языка (доклады делались на этом языке), приуроченное к юбилею. 19 декабря СГАУ была организована также юбилейная конференция, посвященная применению экономико-математических методов в инновационном развитии АПК.

6 декабря состоялось торжественное заседание Ученого совета Института общей генетики РАН, посвященное юбилейной дате (www.vigg.ru/istorija-instituta/muzeini-vavilova/nivavilov-jubilei/programma-6-dekabrja/). С докладами выступили гости из ВИР — директор д.б.н., проф. Н.И. Дзюбенко и зав. отделом, научный хранитель кабинета-музея Н.И. Вавилова д.б.н., проф. И.Г. Лоскутов. От Русского географического общества и Института географии РАН выступили академик РАН В.М. Котляков и проф. А.А. Тишков. Доклад на тему «Н.И. Вавилов и современная наука о происхождении домашних животных» сделал председатель Комиссии по разработке и сохранению научного наследия акад. Н.И. Вавилова член-корреспондент РАН И.А. Захаров-Гезехус. Были также заслушаны доклады проф. Т.А. Ежевой (МГУ), члена-корреспондента РАСХН Н.П. Гончарова (Ново-

сибирск), академика РАСХН Н.И. Савельева (Мичуринск). В заключение выступил академик РАН С.Г. Инге-Вечтомов с сообщением «Уроки Н.И. Вавилова». Был показан 20-минутный фильм о Вавилове. Большую деятельность по обновлению экспозиции и популяризации имени и дел ученого провел и музей Н.И. Вавилова при ИОГЕН (зав. — Т.Б. Авруцкая).

4–6 декабря в Москве, в Российском государственном аграрном университете — Московской сельскохозяйственной академии им. К.А. Тимирязева прошла Международная научная конференция, посвященная 125-летию со дня рождения Н.И. Вавилова, — «Научное наследие Н.И. Вавилова и современность». 4 декабря состоялось пленарное заседание, которое открыл ректор академик РАСХН В.М. Баутин. Затем выступили с докладами член-корреспондент РАН И.А. Захаров-Гезехус, академик РАН и РАСХН К.Г. Скрябин, академик РАСХН В.М. Баутин, академик РАСХН И.А. Тихонович, член-корреспондент РАН Г.К. Янковский, академик РАСХН П.Н. Харченко, профессор Н.И. Дзюбенко и др. После этого произошло открытие музея имени Н.И. Вавилова, на котором присутствовал сын ученого Ю.Н. Вавилов. 5–6 декабря конференция продолжила работу на факультетских и секционных заседаниях. К юбилею были изготовлены бюсты и памятная медаль Н.И. Вавилова. Научная библиотека организовала в постоянно действующем отделе редкой книги экспозицию трудов Н.И. Вавилова и работ

о нем. Вышли в свет соответствующие печатные издания, посвященные юбилею. Кроме того, в течение 2012 года были проведены другие юбилейные конференции: студенческая, молодых ученых, летняя школа и др.

21 ноября Государственным Биологическим музеем им. К.А. Тимирязева был организован семинар «Идеи Н.И. Вавилова в современной генетике» для учителей биологии, экологии, географии, студентов биологических факультетов. 5 декабря здесь состоялся приуроченный к 125-летию со дня рождения Н.И. Вавилова семинар для той же аудитории на тему «История мировой коллекции генетических ресурсов растений в России». Его провел научный хранитель мемориального кабинета-музея Н.И. Вавилова в ВИРе д.б.н., проф. И.Г. Лоскутов.

Раньше 10–12 июля ГНУ «Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства» РАСХН (ГНУ ВСТИСП Россельхозакадемии) была проведена Международная научно-практическая конференция, посвященная 125-летию со дня рождения академика Н.И. Вавилова, — «Наследие Н.И. Вавилова в современной науке и практической селекции». В ней участвовали специалисты из 22 научных учреждений России, Украины, Беларуси, Казахстана, Молдавии, Азербайджана. 12 июля состоялся выезд участников конференции в Центр сохранения, поддержания и изучения генофонда растений — в бывший МОВИР по адресу: пос. Михнево Ступинского района Московской области.



Рис. 1. Н.И. Вавилов с коллегами. Предположительно со слушателями его лекций в Ставрополе в 1930-х годах

Интересна и география юбилейных мероприятий. Например, в Ставрополе, в Ставропольском государственном аграрном университете (СтГАУ), на факультете защиты растений 1 марта 2012 г. была организована конференция, посвященная 125-летию Н.И. Вавилова. В целом цикл юбилейных вавиловских мероприятий проводится здесь под патронатом научной библиотеки этого университета (http://bibl.stgau.ru/new/index.php?option=com_content&view=article&id=77:vavilov1&catid=53:vavilov&Itemid=150). Ею подобраны материалы для экспозиции, в том числе редкая фотография Николая Ивановича с коллегами середины 1930-х годов (рис. 1).

Известно, что ученый в 1934–1937 гг. читал лекции в Северо-Кавказском зоотехническом институте (ныне — СтГАУ). Эта фотография очень ясно демонстрирует глубинные черты Николая Ивановича: демократичный, скромно одетый, с неизменной доброжелательной улыбкой, хорошо вписанный в любую профессиональную среду. Сложно себе представить, как человек с таким большим душевным здоровьем мог быть через 3 года приговорен к смертной казни? И труднее всего представить его реакцию: как ему, человеку абсолютной цельности и честности, пришлось осознавать эту несправедливость, понимая нелепость обвинений во вредительстве и шпионаже.

28 апреля в Дербенте (Республика Дагестан), на кафедре биологических дисциплин филиала Дагестанского государственного университета прошел вузовский научно-методический семинар «Российский и советский ученый-генетик, ботаник, селекционер, географ», посвященный 125-летию Н.И. Вавилова. На семинаре выступили зав. кафедрой доцент Э.С. Аскеров, доценты М.Г. Гафизов, М.С. Летинова, студенты 4-го курса и др.

Радует и позиция украинских ученых, почитающих общие научные корни своей и российской нации. Так, в Харькове 18 декабря 2012 г. в Национальном техническом университете «Харьковский политехнический институт» состоялась научно-методическая конференция, посвященная 125-летию со дня рождения Н.И. Вавилова. С приветственным словом обратился организатор конференции, зав. кафедрой «Биотехнология и аналитическая химия», д.т.н., профессор Н.Ф. Клещев, который рассказал о творческом пути Николая Ивановича. На конференции выступили академик НАН Украины В.В. Кириченко, профессора Е.М. Климова, В.В. Россихин, В.Н. Скляр, а также зав. учебной лабораторией кафедры БиАХ НТУ «ХПИ» Н.М. Мартынюк.

Отдельно нужно остановиться на тематических выставках в честь юбилея. Среди них наибольший интерес

представляет историко-документальная выставка «125 лет со дня рождения академика Н.И. Вавилова. 1887–1943 гг.», которая проходила в Санкт-Петербурге, в Выставочном зале федеральных архивов. Ее организаторами явились Федеральное архивное агентство, Российский государственный архив экономики, Российский государственный исторический архив при участии Госархива РФ, Российского госархива социально-политической истории, Российского госархива кинофотодокументов, Центрального архива ФСБ России, Центрального госархива г. Санкт-Петербурга, Центрального исторического архива г. Москвы, Государственного архива Саратовской области, Русского географического общества, Киностудии «Ленфильм», ВИР, ИОГЕН и др. Большую помощь в проведении выставки оказал сын Н.И. Вавилова доктор физ.-мат. наук Юрий Николаевич Вавилов. В экспозиции было представлено более 250 личных и служебных документов и экспонатов из фондов архивов и научных учреждений, семейного архива Ю.Н. Вавилова, а также кино- и фотодокументы. Выставка работала с 26 ноября по 21 декабря.

4 декабря 2012 г. к юбилею Вавилова в Москве, в Государственном биологическом музее им. К.А. Тимирязева открылась выставка «Стоящий на глобусе». 11 декабря состоялась презентация вавиловских материалов в Архиве Российской академии наук (Москва).

Нестолычные города также откликнулись на юбилей Н.И. Вавилова: были устроены выставки в Саратове, в Саратовском государственном университете им. Н.Г. Чернышевского и в Амурской областной научной библиотеке имени Н.Н. Муравьева-Амурского (г. Благовещенск). Причем, в Благовещенске книжная выставка открылась 1 ноября под весьма символическим девизом: «Николай Иванович Вавилов: Сеятель и хранитель».



Рис. 2. Почтовая карточка, выпущенная к вавиловскому юбилею в Саратове

Почтовое ведомство России традиционно реагирует на персональные юбилеи великих людей и не забывает

Вавилова. К 125-летию со дня рождения ученого оно выпустило почтовую марку и маркированную почтовую карточку тиражом 12 тысяч экземпляров. Проявили также инициативу и саратовские земляки Николая Ивановича: Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова при поддержке Почты России выпустили в обращение юбилейные тематический почтовый конверт и почтовую карточку (рис. 2). На почтовом конверте, изданном полумиллионным тиражом, изображен памятник Н.И. Вавилову, открытый в Саратове в 1997 году. На почтовой открытке отпечатан фрагмент барельефа, установленного в честь ученого на здании Саратовского университета, где он работал и сделал свой исторический доклад о гомологических рядах (1917–1921). Здесь в стенах университета в ноябре 2012 г. состоялась процедура торжественного гашения указанных почтовых документов.

**Памяти академика РАСХН
Л.К. Эрнста
(1929–2012)**



26 апреля 2012 года скончался Лев Константинович Эрнст, вице-президент РАСХН, академик ВАСХНИЛ и РАСХН. Он является крупным ученым в области генетики и селекции сельскохозяйственных животных, исследователем, много сделавшим для развития отечественной сельскохозяйственной биотехнологии.

Он родился 8 января 1929 г. на ст. Сеньково Владимирской области. В 1951 году окончил Кировский сельскохозяйственный институт. Его научная жизнь связана с ВНИИ животноводства, где он прошел путь от младшего научного сотрудника (1954–1956) до директора (1970–1975). Короткий период его деятельности пришелся на преподавание на кафедре разведения

сельскохозяйственных животных Кировского сельскохозяйственного института (1956–1959).

Успехи Л.К. Эрнста были замечены руководством ВАСХНИЛ, и начиная с 1970-х годов ему были доверены ответственные посты в этой авторитетной научной организации. В 1975–1976 гг. он состоял на должности первого заместителя председателя, а с 1976 по 1978 гг. — председателя президиума Отделения ВАСХНИЛ по Нечерноземной зоне РСФСР, одновременно (с 1976 года) став вице-президентом ВАСХНИЛ. В 1978–1979 годах он был академиком-секретарем Отделения животноводства ВАСХНИЛ, а с 1979 года до конца своих дней выполнял обязанности вице-президента этой академии (в 1992 г. она была переименована в РАСХН).

Научные интересы Л.К. Эрнста всегда сосредотачивались на самых актуальных проблемах животноводства. Им разработана система крупномасштабной селекции методов компьютерного моделирования селекционных процессов.

Он является одним из основоположников отечественной сельскохозяйственной биотехнологии, автором таких фундаментальных трудов, как «Проблемы селекции и биотехнологии сельскохозяйственных животных» (1995), «Генетические основы селекции сельскохозяйственных животных» (2004) и др. Именно ему удалось сформировать научно-практическое направление по созданию трансгенных животных, характеризующихся новыми заданными свойствами, в том числе обладающих иммунитетом к инфекционным заболеваниям и другими полезными качествами. При этом его исследования отличались взвешенностью, объективностью, учетом множественных факторов, включая средовые. Так, он всегда предостерегал от излишней переоценки вклада генетических факторов, «гегемонии генома», как он выражался.

Ученым опубликовано более 750 научных работ, в том числе около 60 книг. Он имеет более 60 авторских свидетельств и патентов на изобретения. Был избран в четыре иностранных академии.

Заслуги Льва Константиновича Эрнста высоко оценены государством: он награжден орденами и медалями СССР и Российской Федерации.

В начале 2000-х годов он горячо поддержал идею создания Общества биотехнологов России имени Ю.А. Овчинникова и способствовал в рамках своей компетенции развитию сельскохозяйственного направления его деятельности.

Редколлегия и редсовет журнала искренне скорбят об этой тяжелой утрате для нашей науки.

ПУБЛИКАЦИИ

Спирин А.С. Молекулярная биология. Рибосомы и биосинтез белка. — М.: Академия, 2011. — 512 с. — Серия «Высшее профессиональное образование».

Настоящий учебник охватывает часть общего курса молекулярной биологии, посвященную структурным и функциональным аспектам биосинтеза белков, который автор читает на биологическом факультете МГУ им. М.В. Ломоносова. Вместе с тем объем включенного в учебник материала соответствует уровню требований кандидатского минимума по специальности «Молекулярная биология». В книге отражены современные тенденции и знания в данной области науки, приведен достаточно полный список литературы по охватываемым проблемам. Книга не имеет аналогов в современной мировой литературе. Для студентов учреждений высшего профессионального образования. Может быть полезен научным работникам и преподавателям вузов.

Бочков Н.П., Пузырев В.П. Наследственные болезни (+CD). — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. — 936 с. — Серия «Национальные Руководства».

Национальные руководства — первая в России серия практических руководств по основным медицинским специальностям, включающих всю основную информацию, необходимую врачу для непрерывного последиplomного образования. Национальное руководство «Наследственные болезни» содержит актуальную, современную информацию о геноме человека, общих вопросах медицинской генетики, клинической генетике. Руководство состоит из двух частей, в которых излагаются теоретические и клинические вопросы медицинской генетики. В первой части представлены новейшие данные по теоретическим вопросам медицинской генетики. Сведения об организации и функциях генома, генов и хромосом изложены в понятной для врачей форме, но без излишнего упрощения. Во второй части представлены вопросы клинической генетики, а именно методы диагностики наследственных болезней (от клинического уровня до секвенирования ДНК и РНК), принципов лечения и профилактики отдельных нозологических форм. Поскольку в национальных руководствах по другим специальностям описаны многочисленные наследственные болезни,

на них можно найти ссылки (см. «Перечень наследственных болезней (синдромов), описание которых представлено в других национальных руководствах» на компакт-диске). Приложение к руководству на компакт-диске включает более полную информацию по некоторым главам, электронную версию руководства, обширный иллюстративный материал, приложения, перечень наследственных болезней, описанных в других руководствах, фармакологический справочник. В подготовке настоящего издания в качестве авторов-соавторов и рецензентов принимали участие ведущие ученые разных специальностей: генетики, иммунологи, невропатологи, фармакологи, онкологи и другие специалисты. Все рекомендации прошли этап независимого рецензирования. Руководство предназначено для врачей-генетиков, врачей лаборантов-генетиков, врачей смежных специальностей, интернов, ординаторов, аспирантов, особенно по таким дисциплинам, как педиатрия, акушерство-гинекология, нервные болезни.

Микробиология / Под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. — 608 с.

Учебник соответствует официально утвержденной программе преподавания и новому образовательному стандарту по специальности 060301.65 «Фармация». Учебник состоит из 16 глав, в которых рассмотрены вопросы общей и частной микробиологии, вирусологии и иммунологии. Особое внимание уделено вопросам микрофлоры лекарственного сырья и микробиологическим требованиям к лекарственным препаратам и обеспечению их качества. Теоретический материал проиллюстрирован таблицами и рисунками. Каждая глава завершается вопросами для самоподготовки с ответами. Предназначен студентам фармацевтических факультетов медицинских вузов и студентам химико-фармацевтических вузов.

Лабинская А.С. Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Книга 2. — М.: Бином. Лаборатория знаний, 2010. — 1152 с.

«Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций» (Книга 2 «Руководства по медицинской микробиологии») составлена и написана ведущими специалистами (микробиологами,

инфекционистами и эпидемиологами) России. Текст книги содержит общую и специальные части. В общей части рассматриваются современные данные о формах адаптации бактерий к условиям внешней среды, в том числе в свете малоизученной проблемы социального поведения этих микроорганизмов. Специальная часть состоит из трех разделов: грамположительные и грамотрицательные бактерии, а также раздел, посвященный диагностическим методам. В этой части дано описание биологических свойств бактерий, вызывающих инфекционные заболевания человека определенных нозоформ и встречающихся во всех странах мира. Особое внимание при описании микроорганизмов уделено их антигенам, факторам патогенности и их генетическому контролю. Подробно описаны современные методы микробиологической диагностики, от классических культуральных до ускоренных, включая генодиагностику. В сжатом виде изложены патогенез и клиническая картина вызываемых заболеваний. Кратко представлены источники и резервуары возбудителей, пути их распространения и способы заражения. Каждую главу завершает краткое описание методов современной антибактериальной терапии и профилактики инфекций, вызванных соответствующими микроорганизмами. В последнем разделе даны прописи реактивов и питательных сред, используемых в настоящее время при микробиологической диагностике бактериальных инфекций, с обязательным включением методов, регламентированных соответствующими директивными документами Роспотребнадзора и МЗ и СР РФ. Книга предназначена для врачей-микробиологов, преподавателей вузов и системы последипломного профессионального образования врачей в качестве учебного пособия.

Уотсон Дж. Избегайте занудства. Уроки жизни, прожитой в науке. Пер. с англ. П. Петрова. — М.: Астрель, Corpus, 2010. — 464 с.

В автобиографической книге «Избегайте занудства» Уотсон пишет о своем знаменитом открытии, о том, как функционирует американская наука, и о тех уроках, которые он смог извлечь из собственного жизненного опыта, а также из опыта наблюдений за другими людьми. Именно это последнее обстоятельство делает книгу Уотсона не просто увлекательной, но еще и очень полезной: «Избегайте занудства» — это одновременно и обстоятельные мемуары великого ученого, и своеобразное пособие по достижению успеха в науке. Рассказывая

о своем жизненном пути, автор дает читателю дельные и практичные советы, как сделать успешную карьеру в науке и, возможно, однажды совершить выдающееся открытие самому.

Quantitative Real-time PCR in Applied Microbiology / N.A. Saunders and M.A. Lee (Eds.). — Caister Academic Press, 2012. — 242 p.

Руководство по использованию полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном масштабе времени применительно к задачам прикладной микробиологии. Подготовлено ведущими специалистами в этой области. В нем рассматриваются различные аспекты данной методологии: процедурные вопросы, флуоресцентная химия, количественный и компьютерный анализ, экологическая, водная и пищевая микробиология, будущее этой технологии. В книге содержится 11 глав, в которых последовательно изложены вышеперечисленные темы.

Современная пищевая микробиология. Джей Дж.М., Лесснер М.Дж., Гольден Д.Л. / Пер. 7-го англ. изд. — М.: Бином, Лаборатория знаний, 2012. — 886 с. — Серия «Лучший зарубежный учебник».

Основное внимание авторов сосредоточено на общей биологии микроорганизмов, обнаруживаемых в пище. Дан обзор современных методов, классификации бактерий, таксономических схем для дрожжей и плесневых грибов. Описаны факторы роста микроорганизмов в пищевых продуктах. Читателя безусловно заинтересуют методы культивирования микроорганизмов, используемых в пищевой промышленности, а также способы сохранения от порчи продуктов и описание способов дифференциации патогенов от непатогенов. Отдельные главы посвящены санированию пищи, индикаторным организмам, системам контроля качества пищевого производства. Для студентов и преподавателей пищевых, биотехнологических и медицинских вузов, научных сотрудников, специалистов и работников саннадзора.

Маршалл В.Дж., Бангерт С.К. Клиническая биохимия. 6-е изд., перераб. и доп. — М.: Бином, Диалект, 2011. — 408 с.

Новое издание на русском языке современного руководства, созданного известными британскими специалистами в области лабораторной диагностики (соответствующее 6-му изданию на языке оригинала), охватывает все основные разделы клинической биохимии: методологию лабораторной диагностики, определение водно-электролитного и кислотно-основного состояния организма, биохимические показатели и значимость для диагностики их изменений при патологии внутренних органов, онкологических заболеваниях, наследственных и приобретенных метаболических нарушениях. В отдельных главах рассмотрены мониторинг лекарственных веществ, методы контроля за эффективностью лечебно-го питания и особенности лабораторной диагностики у людей старшего возраста и детей. Книга содержит большое количество схем, таблиц и клинических примеров. Для врачей, преподавателей и студентов медицинских учебных заведений.

Льюин Б. Гены / Пер. 9-го англ. изд. — М.: Бином, Лаборатория знаний, 2012. — 896 с. — Серия «Лучший зарубежный учебник».

Известный автор Бенджамин Льюин подготовил новое издание книги, ставшей классической для молекулярных биологов всего мира. Его обстоятельная работа всегда соответствует последним достижениям в области молекулярной биологии и молекулярной генетики, включая структуру генов, последовательность, организацию и экспрессию. Девятое издание дополнено новыми разделами (эпигенетические эффекты), хорошо иллюстрировано и структурировано, что помогает студентам лучше ориентироваться в отдельных темах. Для студентов, специализирующихся в области молекулярной генетики, молекулярной биологии, геномной инженерии, а также для аспирантов, преподавателей, научных сотрудников.

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 рубрикаций, со списком литературы, резюме на русском и английском языках; 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 28.12.12
Формат 60/90¹/₈. 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. Регулярно 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 57 регионах России и объединяет свыше 3000 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.

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

Членство в ОБР является бесплатным для физических лиц.

Контакты: Адрес: 119071 Москва, Ленинский пр-т, 33

Тел.: +7 (495) 648-09-13

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