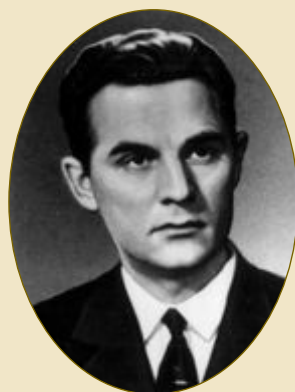


· БЕЛОЗЕРСКИЙ · ТОДД · СЕНГЕР · ОЧОА ·

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

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



Т. 4, № 1
2008

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

· СМИТ · ГИЛБЕРТ · БЕРГ · ЭНГЕЛЬГАРТ ·

2008, Т. 4, № 1

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

Научно-практический журнал

Основан в 2005 году

Главный редактор

Р.Г. Василев

Редакционная коллегия

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

Редакционный совет

В.А. Быков (Москва), В.А. Вахитов (Уфа), М.С. Вонский (Санкт-Петербург),
В.Г. Дебабов (Москва), С.Х. Дегтярев (Новосибирск), В.В. Зверев (Москва),
В.Т. Иванов (Москва), Л.В. Калакуцкий (Пушино), М.П. Кирпичников (Москва),
О.И. Киселев (Санкт-Петербург), А.И. Мирошников (Москва),
Т.В. Овчинникова (Москва), О.Н. Озолинь (Пушино), Е.Н. Орешкин (Москва),
А.Н. Панин (Москва), Е.В. Пименов (Киров), В.О. Попов (Москва),
К.Г. Скрыбин (Москва), Г. Хаммерлинг (Германия), Р.М. Хаитов (Москва),
В.И. Швец (Москва), Н.К. Янковский (Москва)

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

Зав. редакцией О.В. Воробьева

Адрес: 119071 Москва, Ленинский пр-т, 33

Тел.: +7 (495) 648-09-13, 662-95-91

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

Учредитель и издатель:

АНО «Информационно-аналитический центр
медико-социальных проблем»

Адрес: 127581 Москва, Керамический проезд, 53, кор. 1

Тел.: +7 (495) 648-09-13

E-mail: raifvasilov@biorosinfo.ru

Издается при поддержке

Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова

ISSN 1996-4741

© Информационно-аналитический центр
медико-социальных проблем, 2008.

СОДЕРЖАНИЕ

Колонка главного редактора

К читателям. *Р.Г. Васильев* 4

Оригинальные статьи

Электростатическая карта генома бактериофага Т7. Сравнительный анализ электростатических свойств σ^{70} -специфических промоторов Т7 ДНК, взаимодействующих с РНК-полимеразой *E. coli*.
С.Г. Камзолова, А.А. Сорокин, А.А. Осипов, П.М. Бескаравайный 5

Влияние УФ-В радиации на содержание фенольного комплекса и фитогормонов ИУК и АБК в растениях арабидопсиса дикого типа и мутантов *tt4* и *tt5*.
Е.Н. Музафаров, Дж. Эдвардс, Е.П. Иванова, О.П. Сердюк 14

Новая эндонуклеаза рестрикции GsaI, неоизомер фермента VseYI, узнает последовательность ДНК 5'-CCCAGC(-1/-5)-3'.
В.С. Дедков, Н.А. Михненкова, Е.В. Килева, Г.В. Тарасова, Д.А. Гончар, А.Г. Акишев, В.А. Чернухин, С.С. Шкиря, С.Х. Дегтярев 19

Краткие сообщения

Бактерии рода *Pseudomonas* — углеродный цикл, защита и стимуляция растений.
О.П. Горбунов 25

Обзоры

Биоэкономика как следующий шаг развития — шанс для России.
Р.Г. Васильев 28

Создание биоактивных фармакологических субстанций и лекарственных средств из морских гидробионтов.
В.В. Воробьев 33

Перспективы возрождения отечественного промысла и переработки антарктического криля.
В.М. Быкова, К.В. Шуст, С.В. Немцев 39

Предопределяют ли цитокинины в составе тРНК токсичность энтеробактерий и фототрофных пурпурных бактерий?
О.П. Сердюк, Л.Д. Смолыгина, Е.П. Иванова, Е.Н. Музафаров 43

Анализ современных технологий пищевой биоиндустрии.
Г.И. Касьянов 48

Страницы истории

К 20-летию со дня смерти академика Ю.А. Овчинникова.
В.С. Воробьев, О.В. Воробьева 57

Юбилейные и знаменательные даты 2008 года 64

Хроника

События первой половины 2008 года 73

Информация

Предстоящие мероприятия 2008 года 77

Правила для авторов 78

CONTENTS

Column of the editor-in-chief

To readers. *R.G. Vasilov*4

Original articles

Electrostatic map of T7 bacteriophage genome. Comparative analysis of electrostatic properties of σ^{70} -specific promoters of T7 DNA, interacting with RNA-polymerase of *E. coli*.
S.G. Kamzolova, A.A. Sorokin, A.A. Osypov, P.M. Beskaravainy..... 5

Influence of UV-B radiation on the content of phenolic complex and phytohormones of indoleacetic and abscisic acids in plants *Arabidopsis* of wild type and mutants tt4 and tt5.
E.N. Muzafarov, G. Edvards, E.P. Ivanova, O.P. Serdyuk..... 14

New restriction endonuclease GsaI, neoschizomer of BseYI, recognizes 5'-CCCAGC(-1/-5)-3'.
V.S. Dedkov, N.A. Mikhnenkova, E.V. Kileva, G.V. Tarasova, D.A. Gonchar, A.G. Akishev, V.A. Chernukhin, S.S. Shkirja, S.Kh. Degtyarev 19

Short communications

Bacteria genus *Pseudomonas* – the carbon cycle, the protection and stimulation of plants.
O.P. Gorbunov..... 25

Reviews

Bioeconomy as the next step of development – a chance for Russia.
R.G. Vasilov 28

The development of bioactive pharmaceutical substances and drugs from marine hydrocoles.
V.V. Vorobyev 33

Prospects for restoration of the Russian marine catching and processing of Antarctic krill.
V.M. Bykova, K.V. Shust, S.V. Nemtsev 39

Are tRNA cytokinins the determinants of toxicity of enterobacteria and phototrophic purple bacteria?
O.P. Serdyuk, L.D. Smolygina, E.P. Ivanova, E.N. Muzafarov 43

Analysis of the modern technologies in food bioindustry.
G.I. Kasyanov 48

Pages of history

To academician Yuri A. Ovchinnikov's memorial date: 20 years from his death.
V.S. Vorobyev, O.V. Vorobyeva 57

Anniversary and significant dates 2008.....64

The chronicle

Events of the first half-year 2008..... 73

The information

Forthcoming actions 2008..... 77

Rules for authors78

К читателям

Журнал приступает к выпуску четвертого тома. Он уже занял определенную нишу среди профильных изданий и находит своего читателя, пока немногочисленного, но заинтересованного.

В первом номере за этот год собраны оригинальные статьи авторов из Пущино и Новосибирска. Группа исследователей из Института биофизики клетки РАН (С.Г. Камзолова и др.) привела данные об электростатической карте генома бактериофага Т7. Пущинцы также выполнили работу о влиянии УФ-облучения на растения. Публикуются результаты очередных работ коллектива, руководимого профессором С.Х. Дегтяревым (НПО «СибЭнзим»).

Интересная работа представлена О.П. Горбуновым из Пущино о поиске эффективных препаратов на базе микробных штаммов рода *Pseudomonas* для биологической защиты растений.

Блок обзоров включает в себя две работы по морской биотехнологии (этому направлению уделяется сейчас большое внимание как в стране, так и за рубежом). Исследователи из Института фундаментальных проблем биологии РАН сделали квалифицированный обзор по цитокининам. Специалисты из Краснодара дали материалы по пищевой биоиндустрии, в которых описываются новые приемы переработки сырья растительного и животного происхождения. От Общества биотехнологов России представлена обзорная статья по биоэкономике.

Журнал, носящий имя Юрия Анатольевича Овчинникова, не мог не откликнуться на важную дату, связанную с ним, — 20-летие со дня смерти. Поэтому редколлегия помещает статью с описанием его жизни и творчества, приводится библиография его основных трудов.

Редколлегия сделала подборку к 80-летию выхода в свет классической работы Н.К. Кольцова «Физико-химические основы морфологии», предвосхитившей ключевые достижения молекулярной биологии XX века о матричном синтезе «наследственных молекул».

По традиции в конце журнала дается список знаменательных дат и перечень предстоящих мероприятий 2008 года.

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

ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКАЯ КАРТА ГЕНОМА БАКТЕРИОФАГА Т7. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ σ^{70} -СПЕЦИФИЧЕСКИХ ПРОМОТОРОВ Т7 ДНК, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С РНК-ПОЛИМЕРАЗой *E. COLI*

С.Г. КАМЗОЛОВА, А.А. СОРОКИН, А.А. ОСИПОВ, П.М. БЕСКАРАВАЙНЫЙ*

Институт биофизики клетки РАН, Пущино Московской области

Вычислен профиль распределения электростатического потенциала полного генома бактериофага Т7. Проведен сравнительный анализ электростатической и генетической карт Т7 генома. Определена локализация промоторов на электростатической карте Т7-ДНК. Изучены электростатические свойства σ^{70} -специфичных промоторов Т7-ДНК, взаимодействующих с РНК-полимеразой *E. coli*. Найдена корреляция между электростатическими характеристиками промоторов и их функциональной активностью.

Ключевые слова: Т7 бактериофаг, геном, промотор, электростатический потенциал, РНК-полимераза ($E\sigma^{70}$), узнавание.

Для бактерий и бактериофагов основной контроль в регуляции экспрессии генов осуществляется на стадии транскрипции. Наиболее значимые механизмы регуляции транскрипции действуют на стадии узнавания РНК-полимеразой промоторов и образования открытых промоторных комплексов [1]. Следует отметить, что регуляция эффективности комплексообразования РНК-полимеразы с промоторной ДНК может осуществляться как через посредство белков-регуляторов, специфических к индивидуальным промоторам, так и с помощью только самой РНК-полимеразы, обладающей дифференцированным сродством к разным, различающимся по структуре и свойствам, промоторам. Главная форма РНК-полимеразы *E. coli* — $E\sigma^{70}$ специфически узнает и образует транскрипционно активные комплексы с огромным количеством разнообразных промоторов ($\approx 3500-4000$) в геноме *E. coli* и близкородственных фагов. При этом активность многих из них, включая промоторы конститутивных генов *E. coli* и промоторы ранних генов бактериофагов, контролируется *in vivo* только самой РНК-полимеразой ($E\sigma^{70}$). Промоторы бактериофага Т7

являются наиболее репрезентативным примером этой группы промоторов. Такие промоторы представляют особый интерес для проблемы промоторно-полимеразного узнавания, поскольку являются наиболее корректными объектами для исследования «в чистом виде» регуляторных возможностей самой РНК-полимеразы и промоторной ДНК.

Огромное количество промоторов, с которыми специфически взаимодействует РНК-полимераза ($E\sigma^{70}$), и большая вариабельность их нуклеотидных последовательностей [2] указывают на сложность механизмов, вовлеченных в процесс ДНК-белкового узнавания в этом случае. Согласно современным представлениям, не только нуклеотидная последовательность, но и физические свойства промоторной ДНК, задаваемые этой последовательностью, вносят вклад в обеспечение специфичности взаимодействия РНК-полимеразы с разными промоторами. К таким свойствам относятся наличие легкоплавких участков [3–5], изгибность двойной спирали и наличие изломов, шпилек и петель [6, 7], а также динамические характеристики как самих промоторных участков, так и макромолекулы ДНК в целом [3, 8, 9].

В последнее время стало также известно, что регуляция активности промоторной ДНК может осуществляться через электростатические взаимодействия с РНК-полимеразой [10–14]. В частности, в электростатическом профиле дальнейшей upstream области промоторных ДНК ранних генов генома Т4 фага были обнаружены

* Автор для переписки:

© 2008 г. Бескаравайный Петр Михайлович,
научный сотрудник лаборатории механизмов
функционирования клеточного генома
Института биофизики клетки РАН,
142290 Пущино Московской обл.,
E-mail: beskaravainy@gmail.com

специфические элементы, которые могут выступать в роли новых промоторных детерминант, внося свой вклад в промоторно-полимеразное узнавание через электростатические взаимодействия с α -субъединицей РНК-полимеразы [10, 14–16]. Показано, что характер этих взаимодействий определяет функциональное поведение ранних T4 промоторов и контролируемых ими генов в ответ на физиологический сигнал, связанный с АДФ-рибозилированием α -субъединицы РНК-полимеразы [10, 14]. Интересно, что аналогичные электростатические элементы были найдены в рибосомальных промоторах *E. coli* [11, 12] и некоторых σ^{70} -специфичных синтетических промоторах, содержащих олиго-А треки в upstream области [14]. И в этих случаях была найдена корреляция между типом специфических электростатических элементов и характером функционального поведения промоторов. Все это указывает на широкое распространение в промоторах сигнальных элементов, формируемых на основе электростатических характеристик ДНК. Полученные недавно результаты, показывающие, что в процессе эволюции в промоторах отбирались фрагменты последовательности с пониженным электростатическим потенциалом, подтверждают предположение о важности той роли, которую играет электростатический потенциал ДНК в формировании промоторной функции [17]. Таким образом, исследование электростатических свойств промоторных ДНК является перспективным подходом для поиска новых сигнальных элементов, вносящих вклад в формирование промоторной активности.

В данной работе было вычислено распределение электростатического потенциала вдоль полного генома бактериофага T7. Проведено сравнение электростатической и генетической карт фагового генома и определена локализация всех промоторов на электростатическом профиле T7 ДНК.

Известно, что транскрипция на этой матрице осуществляется двумя разными РНК-полимеразами: *E. coli* σ^{70} и T7-кодируемой РНК-полимеразой. В настоящем исследовании рассмотрены электростатические свойства промоторов, специфически взаимодействующих с РНК-полимеразой *E. coli*. Этот фермент может инициировать синтез РНК с 8 промоторов T7 ДНК — A1, A2, A3, B, C, D (A0), E и F.

Все эти промоторы достаточно хорошо охарактеризованы биохимически [18–24]. Сравнительный анализ нуклеотидной последовательности и свойств этих промоторов свидетельствует о том, что их функциональное поведение не соответствует правилу «консенсусного промотора» [21, 23], что, в свою очередь, указывает

на перспективность поиска в них новых сигнальных элементов, отличных от канонических промоторных детерминант. Полученные результаты позволяют предположить, что электростатические характеристики промоторных ДНК могут вносить вклад во взаимодействие РНК-полимеразы с этими промоторами и формирование их функциональной активности.

Материалы и методы

Нуклеотидная последовательность T7 генома и локализация в ней промоторов, терминаторов и идентифицированных генов взяты из базы данных NCBI RefSeq (NC001604). Вычисление распределения электростатического потенциала вокруг двойной спирали ДНК проведено с использованием оригинального метода [11] в модифицированной форме [10]. Программное обеспечение для проведения компьютерных расчетов электростатического профиля ДНК разработано А.А. Сорокиным (lptolik@icb.psn.ru) [25]. Для анализа электростатических профилей σ^{70} -специфичных промоторов T7-ДНК использовались фрагменты величиной в 300 п.о. (-200 — +100 п.о., где +1 п.о. — точка инициации транскрипции).

Результаты и обсуждение

Геном T7 фага содержит 39936 нуклеотидов, их последовательность известна. Нами был рассчитан профиль электростатического потенциала вокруг всей ДНК T7 фага. Электростатическая карта T7 генома была сопоставлена с его генетической картой. Это позволило локализовать на электростатической карте T7 генома профили, соответствующие промоторам, терминаторам и другим, биологически значимым участкам ДНК. Полученные результаты представлены в базе данных DEPPDB (DNA Electrostatic Profile Properties Database, <http://promodel.icb.psn.ru>) в форме графиков электростатического потенциала с соответствующей нуклеотидной последовательностью и аннотацией ее биологических характеристик.

В таблице 1 суммированы данные о локализации всех известных промоторов на генетической карте T7 бактериофага и представлен их классификационный анализ в зависимости от типа РНК-полимеразы, с которой они взаимодействуют, и характера и времени экспрессии генов, которые они контролируют.

Во время инфекции *E. coli* ранняя область T7 генома транскрибируется хозяйской РНК-полимеразой

Промоторы генома T7 бактериофага

Точка старта транскрипции	Название промотора	РНК-полимераза, контролирующая промотор	Класс промотора	Направление считывания
224	A0	<i>E. coli</i>	Не идентифицирован	справа
405	phiOL	T7	ранний	слева
498	A1	<i>E. coli</i>	ранний	слева
626	A2	<i>E. coli</i>	ранний	слева
750	A3	<i>E. coli</i>	ранний	слева
1514	B	<i>E. coli</i>	ранний	слева
3113	C	<i>E. coli</i>	ранний	слева
5848	phi1.1A	T7	ранний	слева
5923	phi1.1B	T7	ранний	слева
6409	phi1.3	T7	ранний	слева
7778	phi1.5	T7	класс II	слева
7895	phi1.6	T7	класс II	слева
9107	phi2.5	T7	класс II	слева
11180	phi3.8	T7	класс II	слева
12671	phi4c	T7	класс II	слева
13341	phi4.3	T7	класс II	слева
13915	phi4.7	T7	класс II	слева
18545	phi6.5	T7	класс III	слева
21865	phi9	T7	класс III	слева
22904	phi10	T7	класс III	слева
27274	phi13	T7	класс III	слева
32998	F	<i>E. coli</i>	Не идентифицирован	справа
34566	phi17	T7	класс III	слева
36836	E[6]	<i>E. coli</i>	Не идентифицирован	слева
39229	phiOR	T7	класс III	слева

($E\sigma^{70}$) с трех tandemно расположенных на левом конце сильных промоторов A1, A2, A3 (рис.1). Одним из основных генных продуктов этой области является T7-специфическая фаговая РНК-полимераза, которая осуществляет транскрипцию средних (класс II) и поздних (класс III) генов T7-ДНК.

Следует отметить, что в отличие от мульти-субъединичной РНК-полимеразы *E. coli*, являющейся одним из самых больших бактериальных белков, T7-специфичный фермент состоит из одной небольшой субъединицы. Соответственно и промоторы, нативные к этим двум ферментам, отличаются, прежде всего, по

своим размерам. Если для РНК-полимеразы *E. coli* контактная промоторная площадка составляет >150 п.о., то для T7-специфичного фермента она равна 23 нуклеотидным парам, к тому же находящимся в составе нуклеотидспецифичного консенсусного элемента. Это априори указывает на принципиальное отличие в характере электростатических взаимодействий при узнавании нативных промоторов этими двумя ферментами. Большое количество нуклеотидов и разнообразие их последовательностей (особенно в upstream области) в промоторах, контролируемых РНК-полимеразой *E. coli*, открывает большие возможности для формирования различных

сигнальных элементов на основе электростатических характеристик промоторных ДНК.

Карта транскрипции Т7-ДНК этим ферментом показана на рисунке 1. РНК-полимераза *E. coli* может инициировать синтез РНК с 8 промоторов — А1, А2, А3, В, С, D (А0), Е и F. Только 3 промотора — А1, А2 и А3 — активны *in vivo* (главные, или основные промоторы). Остальные (минорные) промоторы обнаружены и изучены только *in vitro* [21–23]. РА1, РА2 и РА3 относятся к числу наиболее сильных промоторов среди всех изученных для данного фермента. Минорные промоторы являются слабыми.

Все промоторы подробно охарактеризованы по биохимическим свойствам в сравнительных экспериментах. Показано, что функциональная активность РА1, РА2 и РА3 дифференцированным образом изменяется в зависимости от температуры [19], ионной силы [19], рН [20] и суперскрученности матрицы [24]. РА3 является легкоплавающим промотором. При низких температурах (<15 °С) на интактной Т7-ДНК наблюдается преимущественно утилизация А3 промотора, в то время как РА1 и РА2 активируются только при повышении температуры >15 °С, достигая максимума активности при 37 °С [19]. А1 промотор наиболее активен при низкой ионной

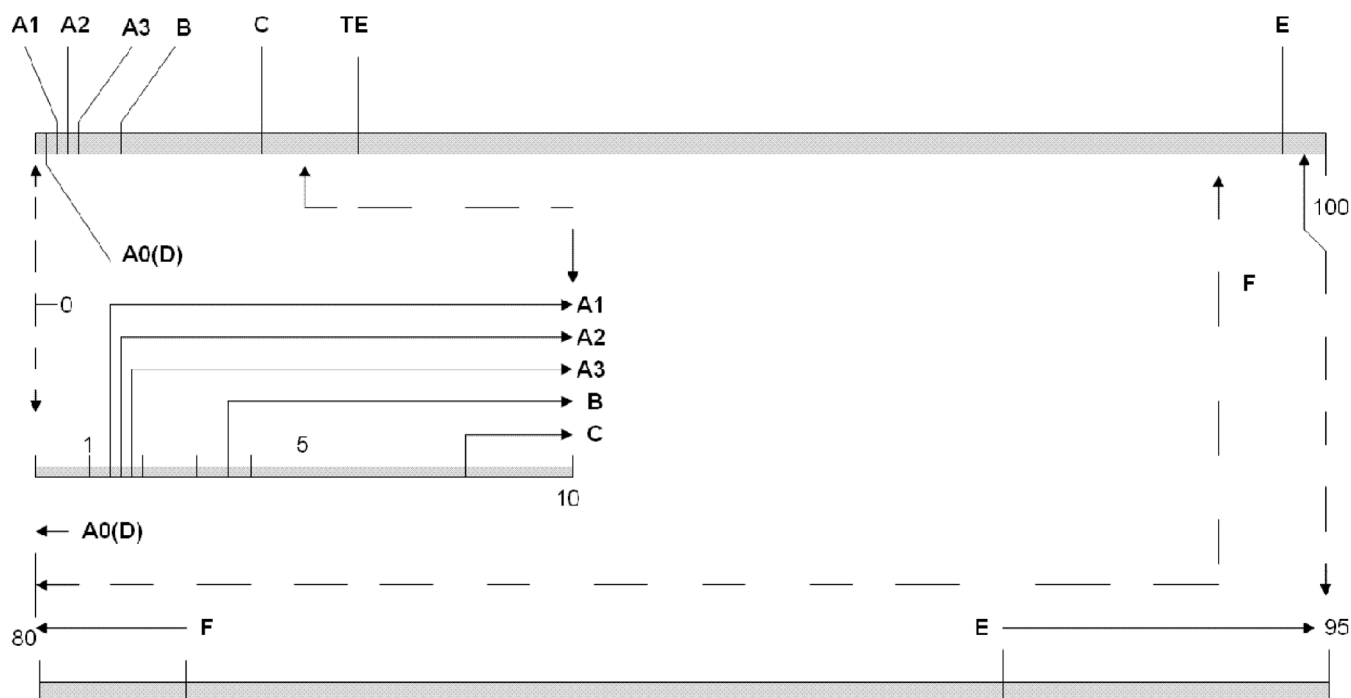


Рис. 1. Карта транскрипции Т7 — ДНК РНК-полимеразой *E. coli*.

Левый край соответствует первому нуклеотиду последовательности Т7 — ДНК, правый — 39936. Одна единица карты — 399,36 п.о. Промоторы А1, А2, А3 активны *in vivo* на ранней стадии инфекции *E. coli* бактериофагом Т7. Терминатор для РНК-полимеразы *E. coli* (ТЕ) находится в положении 7588 п.о. Участок ДНК от А1 промотора до терминатора ТЕ представляет собой единую транскрипционную единицу, составляющую раннюю область генома бактериофага Т7. Промоторы В, С, D(А0), Е и F проявляли активность только в экспериментах *in vitro*

силе, активность РА2 практически не меняется при изменении ионной силы, а активность РА3 увеличивается почти вдвое при увеличении концентрации NaCl от 0 до 0,25 М [19]. При низком рН (5,85) синтез РНК иницируется только с РА1, промоторы А2 и А3 в этих условиях неактивны [20]. РА1 и РА2, клонированные в плазмиду рВR322, по-разному реагируют на изменение

суперскрученности матрицы [24]. Если активность РА2 сильно зависит от степени суперскрученности плазмиды, то эффективность утилизации РА1 мало меняется при изменении этого параметра.

В отличие от РА2 и РА3, комплекс РНК-полимеразы с РА1 чрезвычайно чувствителен к действию гепарина [23].

							-35		-10		
РА1							ttgaca		tataat		
-200	agaccagacc	taaagacact	acataaagac	cagaccta	aaagcctt	gtttagccat	aaagtgataa	cctttaatca	ttgtctttat	taatacaact	-101
-100	cactataagg	agagacaact	taaagagact	taaagatta	atttaaaat	tatcaaaaag	agtattgact	taaagtctaa	cctatag	gatacttacagcc	-1
+1	atcgagaggg	acagggcgaa	tagccatccc	aatcgacacc	gggggtcaacc	ggataagtag	acagcctgat	aagtgcgacg	aaaaacaggt	attgacaaca	+100
РА2											
-200	cttaaaagat	taatttataa	ttatcaaaa	agagtattga	cttaaaagtct	aacctatagg	atacttacag	ccatcgagag	ggacacggcg	aatgaccatc	-101
-100	ccaatcgaca	ccgggggtcaa	ccggataagt	agacagcctg	ataaagtcgca	cgaaaaacag	gta ttgaca	catgaaagta	catgacagta	taagat acaatc	-1
+1	gctaggtaac	actagcagcg	tcaaccggcg	gcacagtgcc	ttctaggtga	cttaagcgca	ccacggcaca	taaggtgaaa	caaaacgggt	gacaacatga	
РА3											
-200	ataagtagac	agcctgataa	gtcgcacgaa	aaacaggtat	tgacaacatg	aaagtaacatg	cagtaagata	caaatcgcta	ggtaacacta	gcagcgtcaa	-101
-100	ccggggcgac	agtgctctct	aggtgactta	agcgcaccac	ggcacataag	gtgaaacaaa	acggttgaca	acatgaagta	aacacgg	taagat gtaccac	-1
+1	atgaaacgac	agtgagtcac	cacactgaaa	ggatgatcgcg	tctaacgaaa	cctgacactaa	gacgctcttt	acaatctggt	taaatagctc	ttgagtgcat	+100
РВ											
-200	caaactgtac	ttttctatag	cgacatgggt	cgctgtggct	ttaactggct	actcgcgaatg	gcacagctca	aagaactgta	cgaaaacaac	aaggcgaatg	-101
-100	ctttagaatc	tgctgagtag	tagactcaag	gtcgcctcta	cgagtggtcc	tttatgatta	tcactttactt	atgagggag	taatgta	taagcttactatc	-1
+1	ggtctactca	ccgctctagg	tctagctgta	ggtgcaccc	ttgggaaagg	tttagtgta	gctgtaggtt	cctactttac	cgcttgcatc	atcatagtaa	+100
РС											
-200	atgaggtagc	tgtagatgta	ctaggaagaa	ccaataacgc	tatgctctgg	gtcaacatgt	tctctgggga	ctttaaggcg	cttgaggaac	gaatcgcgct	-101
-100	gcactggcgt	aatgctgacc	ggatggctat	cgctaaggtt	cttacgctca	acattgataa	gcaacttgagc	caatgtaa	tggctga	taagcttactctt	-1
+1	acaggtcatc	tgcygggtgc	ctgaataggt	acgatttact	aactggaaga	ggcactaaat	gaacacgatt	aacatcgcta	agaacgactt	ctctgacatc	+100
РЕ											
-200	ccatgagcgt	cgctctccgc	aaactctataa	tgctattaac	aaactgttag	accgccacaa	gttcacagatt	ggtaagttgc	agccggatgt	tcacatctta	-101
-100	ggtggccttg	ctgggtctct	tgaagagtag	aaagagaaag	tgggtgataa	cggtctctacg	gatgatgata	tttacacatt	acagtgta	taactcaagggcc	-1
+1	actacagata	gtggctctta	tggatgtcat	tgctatcacg	agatgctcct	acgtgaaatc	tgaaagtaa	cgggagggcat	tatgctagaa	tttttacgta	+100
РД											
-200	ctctttaagt	tgctctctct	tatagtgagt	tgctattaata	aagacaatga	ttaaagggtta	tcactttatg	gctaacaaca	agggcgtcttt	aggtctggct	-101
-100	tttatgtagt	gtctttaggt	ctggctctta	ggctctggct	ttatgtttaa	actttaagat	agggcttgact	tgatgggtc	tttaggtg	taagctttaggt	-1
+1	ggtggcttta	ggatggagct	taggaggtga	ctttaggagg	atactttagg	agactgtaac	agatagggac	acagagagac	actcaaggta	acacccaaag	+100
РФ											
-200	ttattgcgtc	tagcacgacc	agtaagaatc	ttaacgggat	ccattaaagc	atgtacctcg	ccagctctct	taccgtctcc	ctcagctttc	gctttgagag	-101
-100	ccaaatctca	tccttaagtt	cccttagtgt	ttaccagta	gaccccatga	tggcgatgct	accattgaca	cgccggctcat	acgtgg	catgat gcggaac	-1
+1	atatcgaaat	cccttaggtc	attcactgag	aattgctgct	cgctggccat	agtgatggat	aggtccgaaat	caaacaaagt	acgtgcctca	aggaatgagt	+100

Рис. 2. Нуклеотидные последовательности главных и минорных σ^{70} -специфичных промоторов Т7-ДНК

Таким образом, хотя все три промотора относятся к разряду наиболее сильных σ^{70} -специфичных промоторов и в нормальных условиях их активности соизмеримы, с некоторым преимуществом у РА1, совершенно очевидно, что они отличаются по характеру взаимодействия с РНК-полимеразой. Причина этих отличий остается неизвестной. Во всяком случае, функциональная активность и поведение этих промоторов не могут быть объяснены только с позиций соответствия их структуры консенсусному промотору. На рисунке 2 представлены нуклеотидные последовательности главных и минорных σ^{70} -специфичных промоторов Т7 ДНК. Нуклеотидная последовательность -35 области у А2 и А3 промоторов полностью совпадает с соответствующим консенсусным элементом, у А1 промотора она отличается одной неканонической заменой в -29 положении. Все они имеют по два неканонических нуклеотида в -10 области, причем у А1 промотора произошла замена одного из самых значимых и высококонсервативных тимидинов в -12 положении на гуанин. Обычно такие замены сопровождаются резким падением активности промотора. Однако А1 промотор является вообще одним из самых сильных промоторов для

РНК-полимеразы $E\sigma^{70}$. РА1 обладает также большей активностью и по сравнению с РА2 и РА3, хотя у этих промоторов неканонические замены в -10 области затронули функционально менее значимые нуклеотиды.

Известно, что, как правило, температура локального плавления промоторов при образовании открытых комплексов уменьшается при увеличении доли АТ пар в -10 области. Однако указанная зависимость нарушается в случае А1, А2 и А3 промоторов, поскольку в области -10 и в области всего локального плавления легкоплавкий РА3 содержит на одну АТ пару меньше, чем РА2, и такое же количество пар, как РА1.

Отсутствие корреляции между нуклеотидной последовательностью и функциональной активностью подтверждается и при сравнительном анализе главных промоторов с минорными и минорных промоторов между собой. Как правило, минорные промоторы отличаются от главных лишь на одну дополнительную неканоническую замену нуклеотидов в консенсусных областях. При этом надо заметить, что во всех минорных промоторах, кроме F-промотора, сохраняются высококонсервативные наиболее функционально значимые нуклеотиды Т-12, А-11

и Т-7 в -10 элементе и Т-34 — в -35 элементе. Однако все эти промоторы являются слабыми, они неактивны *in vivo* и на интактной Т7-ДНК экспрессируются *in vitro* только в условиях достаточно высокой концентрации РНК-полимеразы. При низкой концентрации фермента активны преимущественно А1, А2 и А3 промоторы.

Константы связывания РНК-полимеразы с основными и минорными промоторами отличаются в ≈ 10 раз (КВ равна $\approx 1 \times 10^{-8} \text{M}^{-1}$ и $\approx 1 \times 10^{-7} \text{M}^{-1}$ для основных и минорных промоторов, соответственно) [21–23]. Эти данные указывают на то, что селекция промоторов РНК-полимеразой *E. coli* в геноме Т7 бактериофага происходит на первоначальной стадии образования промоторно-полимеразного комплекса, на той стадии, на которой имеют место и электростатические взаимодействия в процессе белково-нуклеинового узнавания [10, 15].

В попытке найти причины различий в функциональной активности и поведении σ^{70} -специфичных промоторов Т7 — ДНК, которые не могут быть объяснены особенностями их нуклеотидных последовательностей, были исследованы электростатические свойства соответствующих промоторных ДНК. Электростатические профили промоторов представлены на рисунке 3.

Особое внимание при анализе электростатических профилей было уделено дальней upstream области промоторной ДНК (-60 — -100 п.о.). Это обусловлено несколькими соображениями. Известно, что с этим участком промоторной ДНК контактирует α -субъединица РНК-полимеразы $E\sigma^{70}$, что является отличительной чертой данного фермента и соответствующих промоторов. Кроме того, показано, что электростатические взаимодействия между α -субъединицей и комплементарными специфическими электростатическими элементами в этой области промоторной ДНК являются функционально значимыми, участвуя в формировании активности и специфичности промотора [10–13].

Электростатические профили upstream области промоторов были проанализированы с целью обнаружения в них специфических электростатических элементов. Анализ профилей электростатического потенциала промоторов А1, А2 и А3 показывает, что в дальней upstream области они имеют ярко выраженные характеристические особенности. Промоторы А2 и А3 содержат единый протяженный колоколообразный электростатический элемент в upstream области, ветви которого достигают максимального отрицательного значения в районе -35 и -150 п.о. Участок -80 — -110 п.о. характеризуется более высоким значением электростатического потенциала, с протяженным максимумом в районе -90 п.о. Электро-

статические элементы А2 и А3 сходны по форме, хотя не полностью идентичны и отличаются по величине электростатического потенциала. В целом, элемент промотора А2, в сравнении с А3, более широкий и заряжен более положительно. Нужно отметить, что сходные электростатические элементы характерны для некоторых сильных σ^{70} -специфичных промоторов бактериофага Т4, таких как Р144.6 или Р73.0. [25].

Электростатический профиль upstream области промотора А1 содержит колоколообразный элемент другого типа. Основной отличительной особенностью этого элемента является выраженный электроотрицательный характер. Электроположительный максимум в районе -90 п.о. едва достигает средней величины электростатического потенциала. Максимально отрицательный потенциал в электростатическом профиле дальней upstream области этого промотора располагается в районе -70 — -110 п.о. Соседние области с обеих сторон отличаются значительно более высоким потенциалом. Ранее нами было показано, что нуклеотидные последовательности с более отрицательным потенциалом могут эффективно использоваться для формирования промоторной функции [17]. Кроме того, присутствие наиболее отрицательно заряженного участка в дальней upstream области промоторной ДНК было обнаружено у двух рибосомальных промоторов *E. coli*, для которых была подтверждена специфичность данного электростатического элемента [13].

Таким образом, наличие в дальней upstream области электростатических профилей промоторов А1, А2 и А3 специфических электростатических элементов, сходных с теми, которые ранее были обнаружены и охарактеризованы у других σ^{70} -специфичных промоторов, позволяет предположить их функциональную роль в формировании промоторной активности и для данных промоторов. Важно отметить, что А1, А2 и А3 содержат разные специфические электростатические элементы, что указывает на разный характер их взаимодействия с α -субъединицей, объясняя тем самым различия в их функциональном поведении. Как уже указывалось выше, А1, А2 и А3 расположены тандемно в начале одного и того же оперона Т7 ДНК (см. рис. 1). Предполагалось, что наличие дублирующих сильных промоторов необходимо не столько для увеличения суммарной скорости синтеза соответствующей мРНК, сколько для обеспечения эффективной транскрипции этого оперона в разных условиях, что, в свою очередь, предполагало различие в механизмах взаимодействия РНК-полимеразы с данными промоторами. Полученные результаты свидетельствуют в пользу данного предположения и ука-

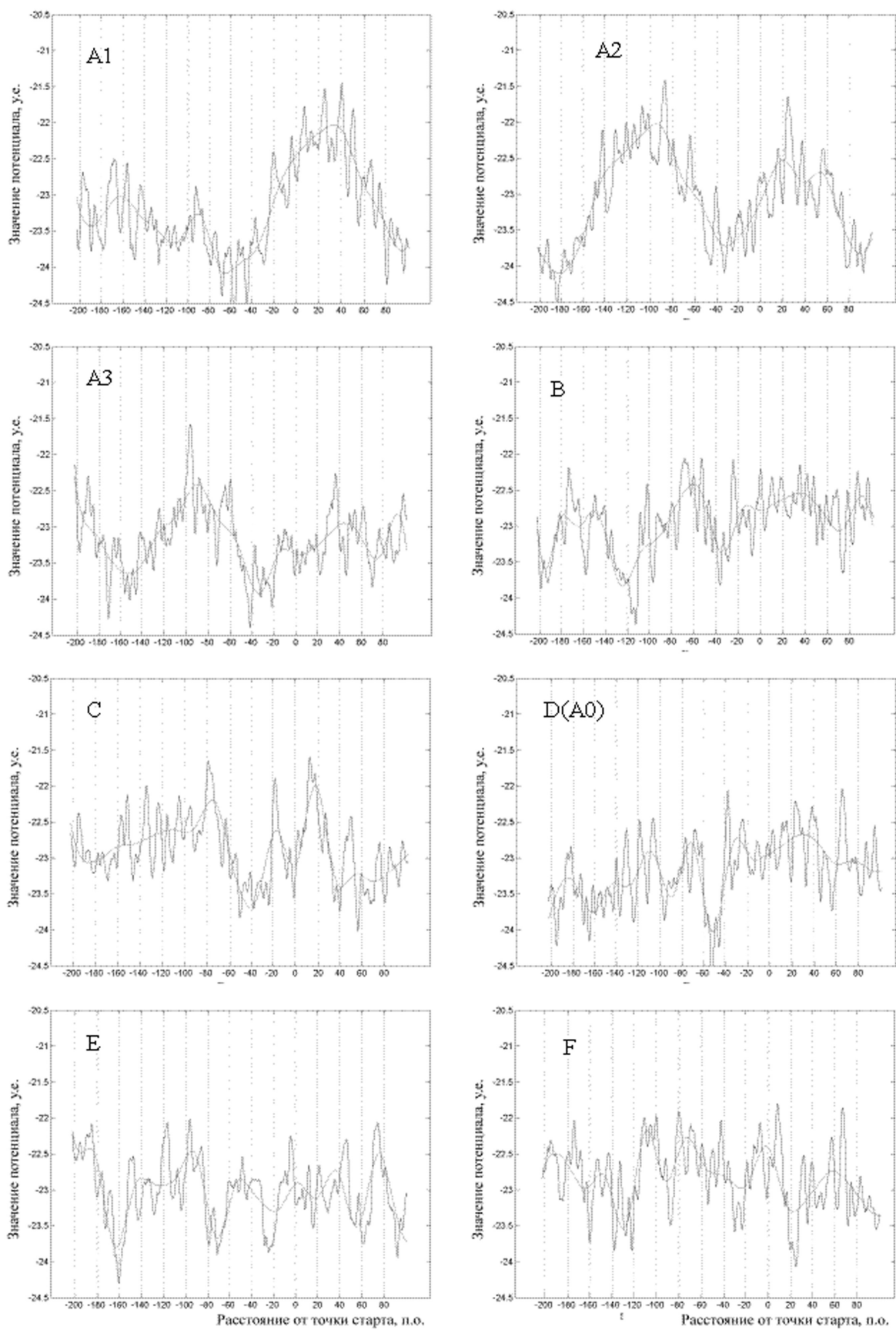


Рис. 3. Электростатические профили $E\sigma^{70}$ -специфичных промоторов бактериофага T7

зывают на возможный характер различий в механизмах взаимодействия фермента с этими промоторами.

Анализ распределения электростатического потенциала минорных промоторов свидетельствует о том, что их профили в дальней upstream области существенно отличаются от тех, которые найдены у основных промоторов, как по наличию самих характеристических элементов, так и их величине и локализации (рис. 3).

Так, у промотора D(A0) в этой области потенциал колеблется в пределах средней величины, не формируя никаких специфических элементов. Профиль В промотора имеет хорошо сформированный электростатический элемент с максимумом в районе -60 п.о. Данный элемент гораздо меньше по размерам положительно заряженного участка и величине его потенциала по сравнению с аналогичными элементами у A2 и A3.

Кроме того, они отличаются и по их локализации в дальней upstream области промоторной ДНК. Положительно заряженные элементы с двумя максимумами в исследуемой области промоторов С и Е отличаются по форме (положению максимумов), по величине потенциала и размеров положительно заряженного участка, как между собой, так и от положительно заряженных специфических элементов A2 и A3.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о существенных различиях электростатических характеристик основных и минорных промоторов T7-ДНК в той области ДНК, которая может участвовать в формировании электростатических сигнальных элементов, вносящих вклад в определение промоторной активности через электростатические взаимодействия с α -субъединицей.

Можно предположить, что различия электростатических элементов, выявленных у минорных и основных промоторов T7-ДНК определяют разный характер взаимодействия этих промоторов с РНК-полимеразой и ответственны (во всяком случае частично) за разницу в их активности и поведении.

В целом, полученные результаты указывают на важность исследования электростатических свойств ДНК для понимания механизмов формирования промоторной функции в геноме и выяснения вклада электростатической компоненты в регуляцию активности промотора.

Литература

1. *Rosenberg M., Court D.* // *Ann. Rev. Genet.* — 1979. — Vol. 13. — P. 319–353.

2. *Lisser S., Margalit H.* // *Nucl. Acids Res.* — 1993. — Vol. 21. — P. 1507–1516.
3. *Kamzolova S.G., Postnikova G.B.* // *Quart. Rev. Biophys.* — 1981. — Vol. 14. — P. 223–288.
4. *Margalit H., Shapiro B.A., Nussinov R., Owens J., Jernigan R.L.* // *Biochemistry.* — 1988. — Vol. 27. — P. 5179–5188.
5. *Benham C.J.* // *J. Mol.* — 1996. — Vol. 255. — P. 425–434.
6. *Course R., Ross W., Gaal T.* // *Mol. Microbiol.* — 2000. — Vol. 37. — P. 687–695.
7. *Perez-Martin I., Rojo F., de Lorezo V.* // *Microbiol Rev.* — 1994. — Vol. 58. — P. 268–280.
8. *Kamzolova S.G., Ivanova N.N., Kamzolov S.S.* // *J. Biol. Phys.* — 1999. — Vol. 24. — P. 157–161.
9. *Schurr J.M., Delrow J.J., Fujito B.S., Benight A.S.* // *Biopolymers.* — 1997. — Vol. 44. — P. 283–308.
10. *Kamzolova S.G., Sivozhelezov V.S., Sorokin A.A., Dzhelyadin T.R., Ivanova N.N., Polozov R.V.* // *J. Biomol. Struct. Dyn.* — 2000. — Vol. 18(3). — P. 325–334.
11. *Polozov R.V., Dzhelyadin T.R., Sorokin A.A., Ivanova N.N., Sivozhelezov V.S., Kamzolova S.G.* // *J. Biomol. Struct. Dyn.* — 1999. — Vol. 16(6). — P. 1135–1143.
12. *Kamzolova S.G., Sorokin A.A., Dzhelyadin T.R., Beskaravainy P.M., Osypov A.A.* // *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2005. — Vol. 23(3). — P. 341–346.
13. *Kamzolova S.G., Sorokin A.A., Beskaravainy P.M., Osypov A.A.* *Bioinformatics of genome regulation and structure II.* / Eds. Kolchanov N., Hofstaedt R., Milanesi Z. — Springer Science Business Media Inc., 2006. — P. 67–74.
14. *Камзолова С.Г., Осипов А.А., Бескаравайный П.М., Дзелядин Т.Р., Сорокин А.А.* // *Биофизика.* 2007. — Т. 52(2). — С. 228–236.
15. *Dzhelyadin T.R., Sorokin A.A., Ivanova N.N., Sivozhelezov V.S., Kamzolova S.G., Polozov R.V.* // *Biophysics (Moscow).* — 2001. — Vol. 46. — P. 972–976.
16. *Sorokin A.A., Osypov A.A., Dzhelyadin T.R., Beskaravainy P.M., Kamzolova S.G.* // *J. Bioinform. Comput. Biol.* — 2006. — Vol. 4(2). — P. 455–467.
17. *Сорокин А.А., Осипов А.А., Бескаравайный П.М., Камзолова С.Г.* // *Биофизика.* — 2007. — Т. 52(2). — С. 223–227.
18. *Minkley E., Pribnow D.* // *J. Mol. Biol.* — 1973. — Vol. 77. — P. 255–277.
19. *Dausse J.P., Sentenac A., Fromageot P.* // *Eur. J. Biochem.* — 1976. — Vol. 65(2). — P. 387–393.
20. *Wienand U., Besk.E., Fuchs E.* // *Nucleic Acids Res.* — 1978. — Vol. 5(4). — P. 1403–1411.
21. *Dauton C.J., Prossen D.E., Parker K.L., Cesh C.L.* // *J. Biol. Chem.* — 1984. — Vol. 259. — P. 1616–1621.
22. *Prossen D.E., Cesh C.L.* // *Biochemistry.* — 1985. — Vol. 24. — P. 2219–2227.

23. Prossen D.E., Cesh C.L. // Biochemistry. — 1986. — Vol. 25. — P. 5378–5387.
24. Mishra R. K., Gopal V., Chatterji D. // FEBS Lett. — 1990. — Vol. 260(2). — P. 273–276.
25. Сорокин А.А. Функциональный анализ промоторных последовательностей *E. coli*. Канд. дисс., Пуцдино, ИТЭБ РАН, 2001. — 130 с.

**ELECTROSTATIC MAP OF T7 BACTERIOPHAGE GENOME.
COMPARATIVE ANALYSIS OF ELECTROSTATIC PROPERTIES
OF σ^{70} -SPECIFIC PROMOTERS OF T7 DNA, INTERACTING
WITH RNA-POLYMERASE OF *E. COLI***

S.G. KAMZOLOVA, A.A. SOROKIN, A.A. OSYPOV, P.M. BESKARAVAINY

Institute of Cell Biophysics of RAS, Pushchino, Moscow Region

Distribution of electrostatic potential of T7 bacteriophage genome was calculated. Promoter sites were localized in electrostatic profile of T7-DNA. Electrostatic patterns of σ^{70} -specific promoters interacting with *E. coli* RNA-polymerase were analyzed and compared with their functional behavior. Some specific electrostatic motifs were found in upstream region of the promoters that may be involved in differential recognition of promoter DNA by RNA-polymerase.

Keywords: T7 bacteriophage, genome, promoter, electrostatic potential, RNA-polymerase ($E\sigma^{70}$), recognition.

ВЛИЯНИЕ УФ-В РАДИАЦИИ НА СОДЕРЖАНИЕ ФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСА И ФИТОГОРМОНОВ ИУК И АБК В РАСТЕНИЯХ АРАБИДОПСИСА ДИКОГО ТИПА И МУТАНТОВ tt4 И tt5

Е.Н. МУЗАФАРОВ^{1*}, Дж. ЭДВАРДС², Е.П. ИВАНОВА¹, О.П. СЕРДЮК¹

¹ Институт фундаментальных проблем биологии РАН, Пущино, Московская область, Россия;

² Университет Штата Вашингтон, п/я 644236, Пульман, Вашингтон, США

Исследовали действие разных доз УФ-В облучения на содержание фенольного комплекса и фитогормонов ИУК и АБК в листьях растений арабидопсиса дикого типа и мутантов tt4 и tt5. Показано, что с увеличением дозы ультрафиолета общее содержание фенольных веществ в листьях всех трех изученных объектов увеличивается, однако имеются качественные различия между растениями дикого типа и мутантами. Содержание ИУК и АБК при повышенной УФ-радиации увеличивается в растениях с нарушенным биосинтезом флавоноидов и уменьшается в растениях дикого типа. Рассматриваются варианты взаимосвязи между действием УФ и состоянием гормонально-ингибиторного баланса в растении.

Ключевые слова: *Arabidopsis thaliana* L., УФ-В облучение, флавоноиды, оксикоричные кислоты, абсцизовая кислота, индолилуксусная кислота.

Исследования действия ультрафиолетового света на растения, особенно сельскохозяйственные, не имеющие механизмов адаптации к УФ, связаны, прежде всего, с приспособлением новых сортов и видов к коротковолновому диапазону естественного освещения [1, 2]. Адаптация к УФ-составляющей солнечного спектра, выработанная в процессе эволюции, зависит от состава пигментов, ряда вторичных метаболитов и эффективности системы фоторепарации и может быть использована при сравнительно низких дозах облучения даже для стимуляции потенциала растения. УФ-радиация, воздействующая на растение, вызывает изменения в его гормонально-ингибиторном балансе. Так, облучение растений приводит к повышенному содержанию в клетках ингибиторов роста, в частности, флавоноидных соединений [3]. Флавоноиды обладают свойством поглощать УФ и накапливаться в основном после УФ-индукции в эпидермальных клетках, указывая тем самым, что

они функционируют как защитный экран. С другой стороны, известно, что при повышении естественного уровня УФ-В радиации изменяется содержание гормонов, увеличивается количество абсцизовой кислоты (АБК) и уменьшается содержание индолилуксусной кислоты (ИУК) [4]. Влияние ультрафиолета во многом зависит от генотипа растения. Известно, что растения арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* L.) обладают высокой чувствительностью к действию ультрафиолетовой радиации. Поэтому сравнительное изучение растений дикого типа и мутантов арабидопсиса с ограниченными возможностями биосинтеза фенольных соединений позволяет более полно оценить ответ растения на действие стрессового фактора.

В настоящей работе исследовали состояние фенольного комплекса и содержание гормонов ИУК и АБК в растениях арабидопсиса (*Lansberg erecta*) дикого типа и мутантов (transparent testa) tt4 и tt5 при двух уровнях ультрафиолетовой радиации 1,37 и 2,11 кДж/м²д.

* Автор для переписки:

© 2008 г. Музафаров Евгений Назибович,
д.б.н., заведующий лабораторией регуляции фотосинтеза
и роста растений Института фундаментальных проблем
биологии РАН
142290 Пущино Московской области, ул. Институтская, 2
Тел: (4967) 732608
Факс: (4967) 330532
E-mail: enmuzafarov@mail.ru

Материалы и методы

Растения выращивали в климатических камерах при температуре 21–23 °С и влажности 60–70% при 14-часовом фотопериоде в присутствии ультрафиолета В или без него. В первой камере ультрафиолет полностью отсекался фильтрами, во второй — доза УФ-В составляла

1,37 кДж/м²д и в третьей — доза УФ-В составляла 2,11 кДж/м²д. В качестве фильтров в различных случаях использовали полиэфирную (спектр пропускания от 350 нм) и целлюлозоацетатную (спектр пропускания от 300 нм) пленки или в отдельных случаях их сочетание. Целлюлозоацетатная пленка убирала малые количества УФ-С, генерируемые лампой FS40. Полиэфирная пленка защищала растения от УФ-В. Плотность фотосинтетического потока составляла 230 мкмоль фотонов/м²сек. При УФ-В обработке использовали флуоресцентные лампы Westinghouse FS40 (Candela Corp/Santa Ana, California, USA.) и флуоресцентные лампы Agrolux. Освещенность белого света измеряли с помощью фотонного датчика Li-Cor LI-185, (Li-Cor Instr. Corp., Lincoln, Nebraska, USA.), а ультрафиолетовую составляющую измеряли спектрометрическим прибором Optronics Model OL754 при пике поглощения 310 нм. В экспериментах использовали листья 30-дневных растений.

После определения площади листьев в исследуемых объектах листовую материал высушивали при 70 °С в сушильном шкафу и затем хранили в темном месте до момента проведения анализа. Сухие листья растирали в ступке и помещали в пробирки Эппендорфа. К сухому порошку приливали 1 мл раствор 70% метанола плюс 5% уксусной кислоты и экстрагировали 24 часа при комнатной температуре, периодически встряхивая пробирки. После экстракции смесь центрифугировали при 14000 г в течение 10 минут. Супернатант переносили в чистую пробирку и добавляли 0,5 мл хлороформа. Пробирку дважды встряхивали в течение 30 минут и затем хлороформ удаляли, а обесцвеченный экстракт высушивали при комнатной температуре под вакуумом. Общее количество фенольных веществ определяли спектрофотометрически по поглощению в области 330 нм [5]. В качестве стандарта использовали рутин. Общее содержание флавоноидов определяли также спектрофотометрическим методом при 410 нм [6]. К 10 мкл раствора добавляли 20 мкл 2%-ного водного раствора AlCl₃ и 20 мкл 5%-ного водного раствора CH₃COONa в конечном объеме 1 мл 70% метанола (5% уксусной кислоты). Измерение проводили через 20 минут после составления смеси. В качестве стандарта также использовали раствор рутина (Serva). Спектры поглощения анализировали на спектрофотометре DW-2 UV/VIS с операционной системой OLIS Spectroscopy Operating system (Version 14.09). Результаты рассчитаны из 6 опытов по 3–4 повторности в каждом. Ошибка измерения составляла 5–7%.

Содержание фитогормонов определяли иммуноферментным методом. Из навески лиофилизированного

материала фитогормоны экстрагировали 80%-ным раствором этанола 10–18 часов при 4 °С. Спирт выпаривали и из оставшейся водной фазы экстрагировали одновременно ауксины и абсцизовую кислоту при рН 2–3 серным эфиром дважды в соотношении 2:1. Из эфира также дважды проводили реэкстракцию 1%-ным раствором NaHCO₃ в соотношении 1:3. Из раствора NaHCO₃ фитогормоны повторно экстрагировали серным эфиром при рН 2–3 в соотношении 3:1. Полученные экстракты метилировали раствором диазометана в эфире, после чего эфир выпаривали, осадок растворяли в фосфатном буфере (0,2 М, рН 7,0), содержащем 0,9% NaCl и 0,05% Tween-20 («Loba», Австрия), и использовали для определения содержания ИУК и АБК иммуноферментным методом [7]. Для иммуноферментного определения содержания фитогормонов использовали специфические для каждого гормона готовые наборы реактивов.

Результаты и обсуждение

Типичной характеристикой растений арабидопсиса является высокий уровень производных синаповой кислоты, который изменяется в зависимости от внешних условий. Уровень синапоил-производных тесно связан с биосинтезом веществ флавоноидной структуры. В данной работе исследовали растения арабидопсиса дикого типа и два последовательных мутанта: tt4 — мутант по гену халконсинтазы и tt5 — мутант по гену халконизомеразы. В этих моделях отсутствует или значительно заторможен синтез флавоноидных структур. При усилении синтеза флавоноидов соотношение производных синаповой кислоты и флавоноидов уменьшается. В основном этот тезис относится к растениям дикого типа. Судя по данным литературы [8, 9], мутантные растения не должны содержать веществ с флавоноидной структурой. Однако наши результаты показали, что тем не менее 5–7% общего фенольного комплекса из листового экстракта tt4 и tt5 мутантов арабидопсиса может быть представлено веществами флавоноидной структуры и соединениями, близкими к ней. В метанольном экстракте листьев растений арабидопсиса дикого типа в условиях отсутствия УФ-В света содержание фенольных соединений было несколько ниже, чем в мутантных растениях (рис. 1). Разница составляла от 8% по сравнению с мутантом tt5 до 33% — с мутантным растением tt4. Первый уровень УФ-В радиации увеличивает биосинтез фенольных веществ примерно на 20–30% для всех трех типов растений. Вторая доза ультрафиолета, 2,11 кДж/м²д, почти в полтора раза и более увеличивает содержание

фенольного комплекса в листьях. Наиболее значительная разница проявляется в растениях мутанта tt5 (до 178%), хотя абсолютное количество фенольных веществ больше в мутанте tt4.

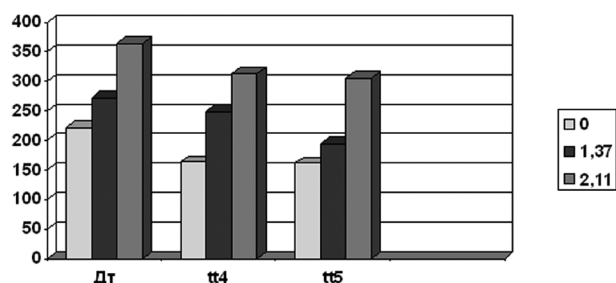


Рис. 1. Содержание фенольного комплекса в листьях арабидопсиса трех типов в мкг/г сухого веса. Справа показаны дозы УФ-В света в кДж/м²д

Содержание флавоноидов и соединений, определяемых с помощью $AlCl_3$ [6], в растениях дикого типа значительно выше, чем в мутантных растениях, и составляет в условиях отсутствия ультрафиолета 6,8% от общего пула фенольных веществ, в то время как в мутантных растениях оно в пределах 3%. При выращивании растений, облучаемых УФ-В светом дозой 1,37 кДж/м²д, содержание флавоноидов повышается в два раза у растений дикого типа. Незначительно повышается уровень этих веществ и в мутантных растениях (рис. 2).

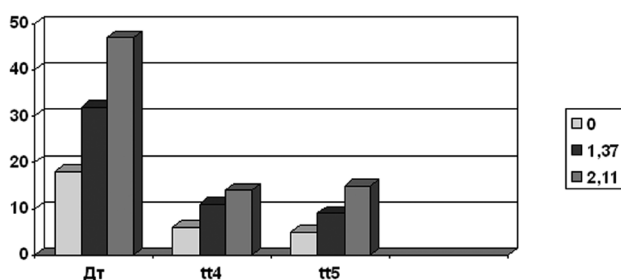


Рис. 2. Содержание флавоноидов в листьях арабидопсиса трех типов в мкг/г сухого веса. Справа показаны дозы УФ-В света в кДж/м²д

Другая доза облучения 2,11 кДж/м²д приводит к дальнейшему увеличению флавоноидных и близких к ним по структуре соединений. Для сравнения можно отметить, что, если в растениях дикого типа доля флавоноидов возрастает от 8% без УФ-света до 19% в условиях максимальной дозы облучения, то для мутантных растений tt4 эта доля составила от 2 до 4,5%, а для tt5 — от 3 до 7%.

Рассматривая каждый тип растений арабидопсиса в отдельности, следует отметить, что в диком типе представлен полный фенольный комплекс, который включает в себя эфиры синаповой кислоты, флавоноиды и минорные фенольные соединения. В состав флавоноидов входят гликозилированные производные кемпферола и кверцетина, а также антоцианы. Идентифицировано одно из соединений флавоноидного ряда как кемпферол-3,7-дирамнозид [5]. Оранжевая флуоресценция, обнаруженная в проростках дикого типа, предполагала наличие высоких концентраций производных кверцетина [10]. Фенольный комплекс мутанта tt4 в основном представлен эфирами синаповой кислоты [11].

Поскольку спектр поглощения феруловой кислоты аналогичен спектру синаповой кислоты, то возможно присутствие в экстракте листьев и эфиров феруловой кислоты. Определенную долю вносят также минорные соединения, структура которых в данной работе не идентифицировалась. Наконец, метанольный экстракт листьев мутанта tt5 также содержит два основных эфира синаповой кислоты и группу минорных веществ, среди которых появляются представители группы халконов и дигидрохалконов.

По данным литературы, известно, что избыточное УФ-В облучение (280–315 нм) растений огурца приводит к увеличению удельного веса листьев (отношение сухой массы листа к его площади). Свыше 80% увеличения этого параметра обусловлено накоплением в листьях неструктурированных углеводов, главным образом, крахмала [12].

В зависимости от условий УФ-В радиации, используемой в наших экспериментах, внешний вид растений арабидопсиса дикого типа и мутантов tt4 и tt5 заметно изменяется. Без ультрафиолетового света растения всех трех типов имеют примерно одинаковые размеры. Облучение УФ-В светом приводит к уменьшению площади листьев и самой розетки. Особенно это заметно на мутантных растениях.

В таблице 1 приведены данные по изменению площади листьев и сухого веса единицы площади листовой ткани при разных дозах УФ-В света. Показано, что с увеличением дозы облучения площадь листьев растений дикого типа и мутанта tt4 уменьшается на 40%, а мутанта tt5 — на 70–80%. При этом удельный сухой вес листа, то есть вес одного кв. см листовой ткани увеличивается примерно до 140–150% для всех трех типов растений. Другими словами, происходит утолщение листовой пластинки, что согласуется с данными литературы, полученными на других объектах [13].

Площадь и удельный сухой вес листьев растений арабидопсиса дикого типа и мутантов tt4 и tt5, выращенных при разных дозах УФ-радиации

УФ-В условия	Дикий тип		tt4		tt5	
	Площадь листа	Уд. сухой вес	Площадь листа	Уд. сухой вес	Площадь листа	Уд. сухой вес
кДж/м ² д	см ²	г/см ²	см ²	г/см ²	см ²	г/см ²
0,00	1,39±0,14	1,52±0,09	1,02±0,09	1,52±0,11	1,51±0,15	1,73±0,2
1,37	0,85±0,12	1,7±0,07	0,69±0,07	1,83±0,12	0,49±0,05	1,89±0,15
2,11	0,84±0,08	2,1±0,06	0,65±0,06	2,14±0,16	0,30±0,4	2,54±0,2

Следует отметить, что изменение факторов внешней среды приводит к перераспределению биосинтеза гормонов и фенольных веществ, в результате изменяются морфо-физиологические параметры растения, где интегральным показателем выступает рост растения. Известно, например, что стрессовые условия, такие как засуха, низкие температуры, засоленность почв, повышенные концентрации тяжелых металлов, воздействие патогенов при выращивании растений, вызывают усиление синтеза флавоноидов и торможение роста. Также снижается уровень ауксинов. Допускается, что колебания в изменении этих гормонов связаны с тем, что они поочередно включаются в процесс адаптации к стрессовому фактору, выполняя специфические для каждого гормона функции. АБК также участвует в становлении вторичных ответных реакций, изменяя структуру листа [14].

Ультрафиолет, выступающий в качестве стрессового фактора, вызывает такие же изменения. Этот тезис справедлив для растений с ненарушенным генетическим статусом. Торможение или блокировка одного из путей метаболизма приводит как к перераспределению ассимилятов, так и к изменению гормонально-ингибиторного баланса. Как видно из таблицы 2, при облучении ультра-

фиолетом растений дикого типа происходит уменьшение содержания абсцизовой кислоты. Однако в мутантных растениях под действием УФ-В света происходит накопление этого гормона. Такая же закономерность сохраняется при определении содержания другого фитогормона, ИУК. Хотя по своим свойствам и функциям оба фитогормона отличаются.

Таким образом, морфологические параметры показывают, что мутантные растения арабидопсиса более чувствительны к действию УФ-радиации, у них значительно уменьшается площадь листьев, но в то же время возрастает сухой вес на единицу поверхности. Усиление биосинтеза фенольных веществ, флавоноидов в растениях дикого типа и производных синаповой кислоты в мутантах подтверждает тезис о защитной роли фенольного комплекса для растительной клетки. В то же время повышенный синтез фитогормонов ИУК и АБК в мутантах tt4 и tt5 говорит об усилении гормонального статуса растений как элемента устойчивости к стресс-фактору. Уменьшение этих показателей в растениях дикого типа может свидетельствовать о некоторой взаимозаменяемости функций фенольных соединений и фитогормонов в процессах роста в течение онтогенеза.

Содержание АБК и ИУК в листьях растений арабидопсиса мутантов и дикого типа при разных дозах УФ света (мкг/г сухого веса)

Фитогормоны	Тип растения	Доза УФ-В облучения		
		0,00 кДж/м ² д	1,37 кДж/м ² д	2,11 кДж/м ² д
Абсцизовая кислота	Дикий тип	15,9±0,7	14,5±0,7	5,9±0,3
	tt4	7,8±0,4	6,1±0,3	13,5±0,7
	tt5	4,5±0,3	18,0±0,7	27,0±0,7
Индолилуксусная кислота	Дикий тип	1,2±0,05	1,1±0,05	0,4±0,05
	tt4	1,0±0,04	0,8±0,04	2,0±0,04
	tt5	0,8±0,04	2,3±0,06	4,0±0,05

Заключение

Можно заключить, что однозначные представления о том, что при стрессе возрастает ингибиторная и снижается стимуляторная активность у растений, нельзя признать исчерпывающим — оно справедливо, видимо, лишь для определенных возрастных состояний растений. Там, где определения проводились в динамике, было отмечено, что депрессия стимуляторной активности гормонов от стресса с возрастом растения ослабевает [15].

Литература

1. Teramura A.H. and Sullivan J.H. Effect of UV-B radiation on photosynthesis and growth of terrestrial plants // *Photosynth. Research.* — 1994. — Vol. 39. — P. 463–473.
2. Caldwell M.M. and Flint S.D. Implications of increased solar UV-B for terrestrial vegetation / In: *The Role of the Stratosphere in Global Change* / Ed. M.L. Chanin. — Springer-Verlag, Heidelberg, 1993. — P. 495–516.
3. Tevini M., Braun J. and Fiesser G. The protective functions of the epidermal layer of rye seedlings against ultraviolet-B radiation // *Photochem. Photobiol.* — 1991. — Vol. 53. — P. 329–333.
4. Жалилова Ф.Х., Власов П.В., Медник И.Т., Кефели В.И. Влияние экологической ультрафиолетовой радиации на активность и содержание некоторых фитогормонов у различных генетических линий арабидопсиса / *Эколог. аспекты регуляции роста и продуктивности растений: Матер. науч. конф. Ярослав. гос. ун-т.* — Ярославль, 1991. — С. 97–101.
5. Lois R. Accumulation of UV-absorbing flavonoids induced by UV-B radiation in *Arabidopsis thaliana* L. I. Mechanisms of UV-resistance in *Arabidopsis* // *Planta.* — 1994. — Vol. 194. — P. 498–503.
6. Markham K.R. *Techniques of flavonoid identification.* — London, Academic Press, 1982. — P. 15–51.
7. Veselov S.Yu., Kudoyarova G.R., Egudkin N.L., Gyuli-Zade V.Z., Mustafina A.R., Kof E.M. Modified solvent partitioning scheme providing increased specificity and rapidity of immunoassay for IAA // *Physiol. Plant.* — 1992. — Vol. 86. — P. 93–96.
8. Koornneef M. Mutations affecting the testain *Arabidopsis* // *Arabidopsis Information Service.* — 1990. — Vol. 27. — P. 1–4.
9. Li J., Ou-Lee T-M., Raba R., Amundson R. and Last R.L. *Arabidopsis* flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation // *The Plant Cell.* — 1993. — Vol. 5. — P. 171–179.
10. Sheahan J.J., Rechnits G.A. Flavonoid-specific staining of *Arabidopsis thaliana* // *BioTechniques.* — 1992. — Vol. 13. — P. 880–883.
11. Chapple C.C.S., Vogt T., Ellis D.E., Somerville C.R. An *Arabidopsis* mutant in the general phenolpropanoid pathway // *The Plant Cell.* — 1992. — Vol. 4. — P. 1413–1424.
12. Britz S.J., Adamse P. UV-B-induced increase in specific leaf weight of cucumber of increase starch content // *Photochem. and Photobiol.* — 1994. — Vol. 60. — P. 116–119.
13. Wilson M.I., and Greenberg B.M. Protection of the D1 photosystem II reaction center protein from degradation in ultraviolet radiation following adaptation of *Brassica napus* L. to growth in ultraviolet-B // *Photochem. Photobiol.* — 1993. — Vol. 57. — P. 556–563.
14. Пустовойтова Е.Н., Жданова Н.Е., Жолкевич В.Н. Последовательность изменений содержания ИУК и АБК в листьях огурца при прогрессирующей почвенной засухе // *Физиология растений.* — 2004. — Т. 51. — С. 569–574.
15. Удовенко Г.В., Гончарова Э.Ф. Экстремальные экологические факторы и ростовые функции растений / В кн.: *Рост растений и его регуляция.* — Кишинев: «Штиинца», 1985. — С. 171–176.

INFLUENCE OF UV-B RADIATION ON THE CONTENT OF PHENOLIC COMPLEX AND PHYTOHORMONES OF INDOLEACETIC AND ABSCISIC ACIDS IN PLANTS *ARABIDOPSIS* OF WILD TYPE AND MUTANTS *tt4* AND *tt5*

E.N. MUZAFAROV¹, G. EDVARDS², E.P. IVANOVA¹, O.P. SERDYUK¹

¹ *Institute of fundamental problems of biology RAS, Pushchino, Moscow Region, Russia;*

² *Washington State University, PO Box 644236, Pullman, WA, USA*

The action of different doses of UV-B radiation on the content of phenolic complex and phytohormones of indoleacetic and abscisic acids in the leaves of plants *Arabidopsis* of wild type and mutants *tt4* and *tt5* was investigated. It was shown, that under UV dose increasing a total content of phenolic substances in the leaves of all three variants augmented, but there were some qualitative differences between plants of wild type and mutants. The content of indoleacetic and abscisic acids under increased UV-radiation rised in plants with changed biosynthesis of flavonoids and diminished in plants of wild type. The types of interrelations between UV action and state of hormone-inhibitory balance in plants were discussed.

Keywords: *Arabidopsis thaliana* L., UV-B radiation, flavonoids, oxycinnamic acids, abscisic acid, indoleacetic acid.

НОВАЯ ЭНДОНУКЛЕАЗА РЕСТРИКЦИИ GsaI, НЕОШИЗОМЕР ФЕРМЕНТА BseYI, УЗНАЕТ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ДНК 5'-СССAGC(-1/-5)-3'

В.С. ДЕДКОВ*, Н.А. МИХНЕНКОВА, Е.В. КИЛЕВА, Г.В. ТАРАСОВА, Д.А. ГОНЧАР,
А.Г. АКИШЕВ, В.А. ЧЕРНУХИН, С.С. ШКИРЯ, С.Х. ДЕГТЯРЕВ

НПО «СибЭнзим», Новосибирск

Описаны свойства новой эндонуклеазы рестрикции GsaI и штамма-продуцента данного фермента. По определителю Берги, а также первичной структуре гена 16S РНК штамм идентифицировали как вид бактерии *Geobacillus stearothermophilus* Y. В соответствии с номенклатурой новую эндонуклеазу рестрикции назвали GsaI. GsaI является неошизомером фермента BseYI, узнает и гидролизует последовательность ДНК 5'-СССAGC(-1/-5)-3' с образованием четырехнуклеотидных 3'-выступающих концов. Эндонуклеаза рестрикции с таким сайтом расщепления ДНК обнаружена впервые. В отличие от BseYI, фермент GsaI наиболее активен при 70 °С. GsaI имеет высокую процессивность и способен расщеплять ДНК при 70 °С в течение 16 часов. Эндонуклеаза рестрикции GsaI может найти применение, как новый инструмент специфической фрагментации ДНК с образованием необычных липких концов.

Ключевые слова: эндонуклеаза рестрикции, неошизомер.

Введение

Эндонуклеазы рестрикции (рестриктазы) широко распространены у прокариот. К настоящему времени открыто около 4000 рестриктаз, узнающих 264 различные последовательности ДНК [1]. Большинство найденных ферментов относится ко II типу рестриктаз, которым в качестве кофактора нужны только ионы Mg^{2+} [2]. Рестриктазы II типа узнают короткие последовательности нуклеотидов и гидролизуют обе цепи ДНК внутри или рядом с узнаваемой последовательностью. Среди рестриктаз распространено явление изошизомерии, когда ферменты узнают одинаковую последовательность ДНК, и неошизомерии, когда при одинаковом сайте узнавания расщепление ДНК происходит в различных местах. Благодаря своей высокой специфичности рестриктазы широко применяются в молекулярно-биологических исследованиях и генно-инженерных работах.

В данной работе изучены свойства бактерии *G. stearothermophilus* Y и продуцируемой этим микроорга-

низмом рестриктазы GsaI, которая является неошизомером фермента BseYI [3].

Материалы и методы

Определение штамма. Таксономическая принадлежность штамма-продуцента рестриктазы GsaI определялась по определителю Берги [4] с использованием методик [5], а также по последовательности ДНК гена 16S РНК.

Выращивание штамма и выделение фермента. Биомассу *G. stearothermophilus* Y выращивали в бульоне, содержащем 1% триптон («Organotechnie», Франция), 0,5% дрожжевой экстракт («Organotechnie», Франция), 0,5% NaCl, 0,05% $MgCl_2$ и 0,001% тиамин, pH 7,5. В качестве инокулята использовали культуру, которую выращивали при 55 °С 18 ч без встряхивания в 6 колбах объемом 500 мл, содержащих по 300 мл бульона.

Выращивание проводили в 20 литрах в ферментере («New Brunswick», США) при 55 °С, аэрации 15 л/мин., перемешивании 200 об/мин. в течение 5 ч до плотности $A_{550} = 2,4$.

Клетки осаждали на центрифуге J2-21 («Beckman», США) в течение 30 минут в роторе JA-10 при 8000 об/мин и замораживали. Было получено 74 г замороженных клеток.

* Автор для переписки:

© 2008 г. Дедков Владимир Сергеевич,

к.б.н., НПО «СибЭнзим»

630117 Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2/12

Тел. 383-333-6854

E-mail: dedkov@sibenzyme.ru

Выделение GsaI проводили при 4 °С. Все растворы содержали буфер: 10 мМ трис-НCl (рН 7,5), 7 мМ 2-меркаптоэтанол и 0,1 мМ ЭДТА. 10 г клеток суспензировали в 50 мл 0,05 М NaCl, 1% тритона X-100, 0,1% лизоцима, 1 мМ PMSF (фенилметилсульфонилфторид) и инкубировали 4 ч.

Затем суспензию клеток термостатировали в ледяной бане и разрушали ультразвуком при максимальной мощности на приборе Soniprep 150 («MSE», Англия) с насадкой диаметром 2 см пятью импульсами по 1 мин. с интервалом 1 мин. Экстракт осветляли на центрифуге J2-21 в течение 30 минут в роторе JA-20 при 15000 об/мин. и наносили на колонку с фосфоцеллюлозой P11 («Whatman», Англия) объемом 30 мл, уравновешенной буфером с 0,05 М NaCl.

Колонку промывали 60 мл 0,05 М NaCl и элюировали фермент 500 мл градиента NaCl от 0,1 до 1 М. Фракции, содержащие фермент, объединяли и наносили на колонку с 5 мл гидроксилапатита («Bio-Rad», США), уравновешенного буфером с 0,1 М NaCl. Колонку промывали 10 мл буфера с 0,1 М NaCl и фермент элюировали 150 мл буфера с 0,1 М NaCl, содержащего градиент калий-фосфатного буфера (рН 7,3) от 0,01 до 0,2 М. Фракции с ферментом объединяли, диализовали 1 ч против буфера с 0,1 М NaCl и наносили на колонку с 3 мл гепарин-агарозы («Sigma», США), уравновешенной буфером с 0,1 М NaCl.

Колонку промывали 10 мл 0,1 М NaCl и фермент элюировали 100 мл градиента NaCl от 0,1 до 0,6 М. Фракции с ферментом объединяли и диализовали против буфера с 50% глицерином, добавляли BSA-Ас до концентрации 200 мкг/мл и полученный препарат GsaI хранили при -20 °С.

Определение оптимальных условий действия фермента. Оптимальные условия активности рестриктазы определяли путем расщепления λ ДНК (50 мкг/мл) при 37 °С, 55 °С и 70 °С в 5 стандартных SE буферных растворах: буфер В – 10 мМ трис-НCl (рН 7,6 при 25 °С), 10 мМ MgCl₂ и 1 мМ ДТТ; буфер G – 10 мМ трис-НCl (рН 7,6), 10 мМ MgCl₂, 50 мМ NaCl и 1 мМ ДТТ; буфер O – 50 мМ трис-НCl (рН 7,6), 10 мМ MgCl₂, 100 мМ NaCl и 1 мМ ДТТ; буфер W – 10 мМ трис-НCl (рН 8,5), 10 мМ MgCl₂, 100 мМ NaCl и 1 мМ ДТТ; буфер Y – 33 мМ трис-ацетат (рН 7,9), 10 мМ ацетат магния, 66 мМ ацетат калия и 1 мМ ДТТ. За единицу активности GsaI принимали минимальное количество фермента, необходимое для полного расщепления 1 мкг ДНК фага λ в буфере W за 1 ч при 70 °С в 20 мкл инкубационной смеси.

Синтез олигонуклеотидов. Олигодезоксирибонуклеотиды следующего состава были синтезированы в НПО «СибЭнзим»:

16S-direct 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCA-3'

16S-reverse 5'-ACGGYTACCTTGTACGACTT-3'

GsaI-upper 5'-GTTGGGCCCCAGCTATAAACTCG-3'

GsaI-bottom 5'-CGAGTTTATAGCTGGGCCCAAC-3'

Выделение бактериальной ДНК. Выделение бактериальной ДНК проводили, как описано ранее [6].

Проведение ПЦР. Полимеразную цепную реакцию проводили на амплификаторе Терцик («ДНК-технология», Россия) в 100 мкл смеси, содержащей 100 нг бактериальной ДНК; однократный буфер («СибЭнзим», Россия) для Taq ДНК полимеразы (60 мМ трис-НCl (рН 8,5); 25 мМ KCl; 1,5 мМ MgCl₂, 10 мМ 2-меркаптоэтанол; 0,1% Тритон X-100); 50 мкМ (каждый) дезоксинуклеозидтрифосфат; 0,1 мкМ (каждый) праймер и 1 ед. акт. Taq ДНК полимеразы. Профиль термоциклирования состоял из денатурации при 94 °С в течение 3 мин. с последующим добавлением фермента во время паузы при 80 °С и проведением 30 циклов: 94 °С – 15 с, 45 °С – 20 с, 72 °С – 90 с. Завершающая стадия – 72 °С – 120 с. Полученный фрагмент ДНК выделяли электрофорезом в 1%-ном растворе агарозы и очищали при помощи набора QIAEX II («QIAGEN GmbH», Германия).

Определение нуклеотидной последовательности ДНК проводили на приборе 310 Genetic Analyzer ABI PRISMTM («Applied Biosystems», США) в соответствии с рекомендациями производителя.

Препараты ферментов, ДНК, дезоксинуклеозидтрифосфатов и синтетических олигонуклеотидов, использованные в работе, произведены в НПО «СибЭнзим» (г. Новосибирск).

Результаты и обсуждение

Идентификация штамма. Термофильный микроорганизм-продуцент нового фермента был выделен нами из почвенных изолятов, как описано ранее [7, 8], и депонирован в Коллекции культур микроорганизмов НПО «СибЭнзим» под номером 7М84. Клетки штамма 7М84 представляют собой подвижные грамположительные палочки размером 0,5x5 мкм. Легко спорулируются и теряют подвижность. Споры овальные, располагаются терминально, раздувают спорангии. Клетки аэробные, оксидазо- и каталазоположительные, растут при температуре от 50 до 70 °С. На питательном агаре при 55 °С

за ночь образуют круглые, до 4 мм в диаметре, немного выпуклые, гладкие, блестящие, сероватые колонии с прозрачным ободком. Содержание G+C в ДНК штамма 7М84, определенное по методу [9], составляет 45%.

Определение первичной структуры 16S РНК. Полимеразную цепную реакцию с праймеров 16S-direct и 16S-reverse на ДНК бактерии 7М84 с последующим выделением полученного фрагмента ДНК и определением его первичной структуры проводили, как описано в методах. Установленная последовательность ДНК гена 16S РНК приведена на рисунке 1 и представлена в базе данных НПО «СибЭнзим» (<http://sciencerussian.sibenzyme.com>). В соответствии с классификатором (<http://rdp.cme.msu.edu>) данная последовательность 16S РНК соответствует бактерии рода *Geobacillus*. Идентификация по определителю Берги [4] позволяет отнести изучаемый штамм 7М84 к виду *V. stearotherophilus*, который в настоящее время рассматривается как *Geobacillus stearotherophilus* [10]. Таким образом, на основе полученных морфологических данных и структуре гена 16S РНК штамм 7М84 был определен нами как *Geobacillus stearotherophilus* Y, а продуцируемая им эндонуклеаза рестрикции в соответствии с номенклатурой [2] названа GsaI.

5'-area

```
AGTCGAGCGGACCGAACAGGAGCTTGCTCTTGTTGGTTAGCGGCGGAC
GGGTGAGTAACACGTTGGGCAACCTACCCGTAAGACCGGGATAACTCCGG
GAAACCGGAGSTAATAACCGGATAACACCGAAGACCGCATGTTCTTTGGTT
GAAAGCGGGCTTTGGCTGTCATCTACGGATGGGCCCGCGGCGCATTAGC
TAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGGCGACGATGCGTAGCCGGCCTG
AGAGGGTGACCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTAC
GGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAG
CGACGCCGCGTGAGCGAAGAAGGCTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTT
AGGG
```

3'-area

```
ACAGGGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGACGCTCGTGTGAGATG
TTGGGTTAAGTCCC GCAACGAGCGCAACCTCGACSTTAGTTGCCAGCA
TTCAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGATGACAAATCGGAGGAAGGT
GGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGT
GCTACAATGGGCGGTACAAAGGGCTGCGAACCCGCGAGGGGGAGCGAA
TCCCAAAAAAGCCGCTCAGTTGGGATTGCAAGGCTGCAACTCGCCTGCAT
GAAGCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACG
TTCCCGGGCSTTGTACACACCGCCGCTCACCACGAGAGCTTGAACA
CCCGAAGTCCGTTGAGTAACCCSTGTGGGAGCCAGCCGCCGAAGGTGGCA
AGGATGG
```

Рис. 1. Первичная структура гена 16S РНК штамма-продуцента рестриктазы GsaI

Выделение и изучение свойств эндонуклеазы рестрикции GsaI. Выделение эндонуклеазы рестрикции GsaI проводили, как описано в методах. Из 10 г биомассы клеток было получено 5 мл препарата GsaI с активностью 20000 ед./мл. Определение субстратной специфичности

фермента проводили путем сравнения картин гидролиза субстратных ДНК (ДНК бактериофагов λ [11] и T7 [12], а также плазмид ρBR322 [13] и ρUC19 [14]) с теоретически полученными электрофореграммами продуктов расщепления этих ДНК по различным сайтам узнавания рестриктаз (<http://tools.neb.com>). На рисунке 2 приведены полученные экспериментальные данные в сравнении с результатами расчетов расщепления субстратных ДНК по сайту узнавания 5'-CCCAGC-3'. Как видно из рисунка 2, наблюдается хорошее соответствие картин гидролиза ДНК и теоретических данных, что позволяет рассматривать последовательность 5'-CCCAGC-3' как возможный сайт узнавания фермента GsaI.

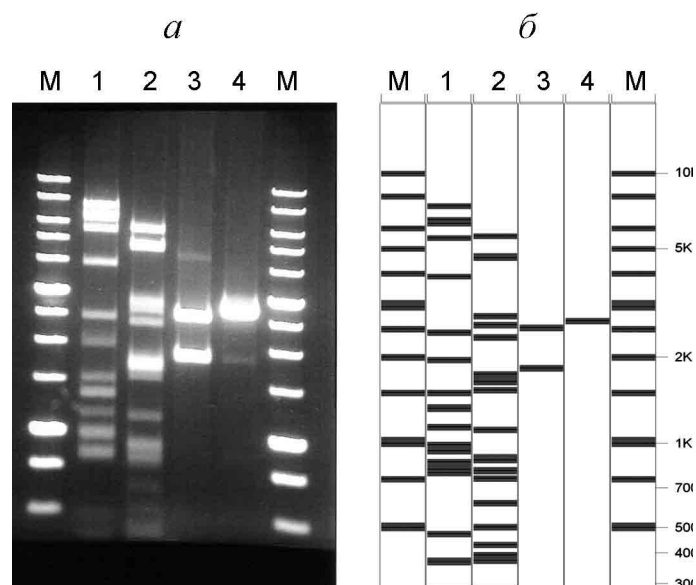


Рис. 2. Определение сайта узнавания рестриктазы GsaI. Расщепление ДНК ферментом GsaI (а) и теоретически рассчитанная картина гидролиза ДНК по сайту 5'-CCCAGC-3' при анализе в программе «Vector NTI» (б). 1 – λ; 2 – T7; 3 – ρBR322; 4 – ρUC19; М – 1 kb ДНК маркер

С целью подтверждения предполагаемого сайта узнавания и определения свойств фермента GsaI мы проводили гидролиз олигонуклеотидного субстрата, содержащего последовательность 5'-CCCAGC-3'.

На рисунке 3 приведены результаты расщепления олигонуклеотидного дуплекса GsaI-upper/GsaI-bottom изучаемой эндонуклеазой рестрикции. Как видно из этого рисунка, рестриктазы AluI и GsaI расщепляют верхнюю цепь олигонуклеотида в одной точке, то есть сайт узнавания GsaI по верхней цепи 5'-CCCAG ↓ C-3'. В отличие от AluI, нижнюю цепь GsaI гидролизует на 4 нуклеотида ближе к 3'-концу в положении 3'-G ↑ GGTCC-5'.

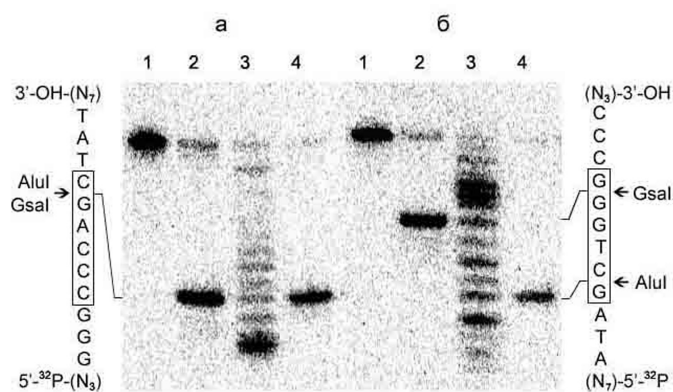


Рис. 3. Определение места гидролиза ДНК рестриктазой GsaI на олигонуклеотидном дуплексе 5'- GTTGGGCCCAGCTATAAACTCG-3' / 5'- CGAGTTTATAGCTGGGCCCAAC -3'.

- а – мечена верхняя цепь дуплекса;
- б – мечена нижняя цепь;
- 1 – исходный дуплекс;
- 2 – исходный дуплекс + GsaI;
- 3 – исходный дуплекс + экзонуклеаза III;
- 4 – исходный дуплекс + AluI

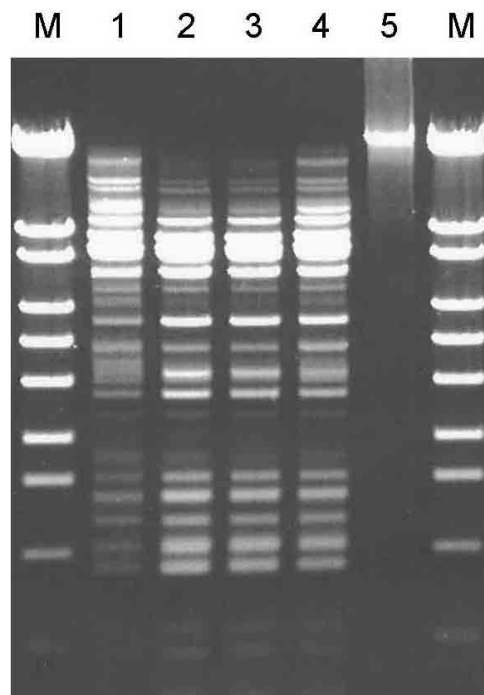


Рис. 4. Определение зависимости скорости гидролиза λ ДНК рестриктазой GsaI от температуры. 1 – 60 °C; 2 – 70 °C; 3 – 75 °C; 4 – 80 °C; 5 – 90 °C; М – маркер (λ ДНК + BssT1I)

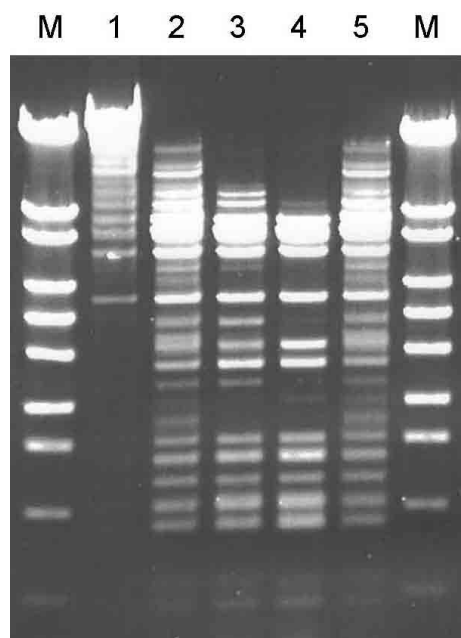


Рис. 5. Определение зависимости скорости гидролиза λ ДНК рестриктазой GsaI от состава рестрикционного буфера. 1 – буфер В; 2 – G; 3 – O; 4 – W; 5 – Y; М – маркер (λ ДНК + BssT1I)

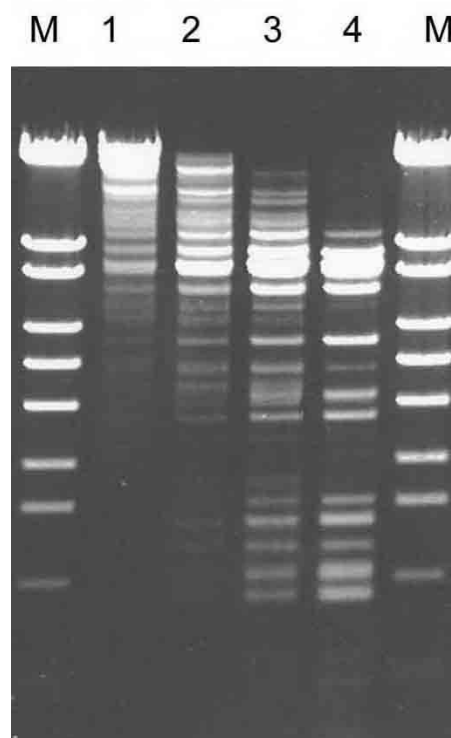


Рис. 6. Определение зависимости гидролиза λ ДНК рестриктазой GsaI от времени инкубации. 1 – 2 ч; 2 – 4 ч; 3 – 8 ч; 4 – 16 ч; М – маркер (λ ДНК + BssT1I)

Таким образом, GsaI расщепляет ДНК внутри непалиндромного гексануклеотида с образованием 3'-выступающих 4 нуклеотидных концов и, согласно принятой номенклатуре, его сайт узнавания представляется как 5'-CCCAGC(-1/-5)-3'.

На рисунке 4 представлена зависимость гидролиза ДНК рестриктазой GsaI от температуры инкубации, а на рисунке 5 — от состава рестрикционного буфера.

Как видно из данных рисунков, оптимальной температурой расщепления ДНК является 70–75 °С, а максимальную активность фермент проявляет в SE-буфере W.

Представляло интерес проверить процессивность фермента GsaI, то есть его способность гидролизовать ДНК в течение протяженного времени.

На рисунке 6 приведена зависимость от времени гидролиза ДНК фага лямбда рестриктазой GsaI. Как видно из этого рисунка, рестриктаза GsaI сохраняет активность в ходе инкубации при 70 °С в течение 16 часов.

Таким образом, GsaI расщепляет ДНК внутри непалиндромного гексануклеотида с образованием четырех 3'-выступающих нуклеотидов: 5'-CCCAGC(-1/-5)-3'.

Фермент с таким сайтом узнавания выделен впервые. GsaI является неоизомером фермента VseYI, который образует 5'-выступающие четырехнуклеотидные концы и имеет сайт узнавания 5'-CCCAGC(-5/-1)-3' [3].

Кроме того, температурный оптимум GsaI соответствует 70 °С, в то время как для VseYI — 37 °С. GsaI может быть использован в молекулярной биологии и генно-инженерных работах для специфической фрагментации ДНК с образованием необычных липких концов.

Литература

1. База данных <http://rebase.neb.com/cgi-bin/statlist/>
2. Roberts R.J. et al. A nomenclature for restriction enzymes, DNA methyltransferases, homing endonucleases and their genes // *Nucleic Acids Res.* — 2003. — Vol. 31. — P. 1805–1812.
3. New England Biolabs. Catalog & Technical Reference. VseYI / — USA., 2007–2008. — P. 32.
4. Краткий определитель бактерий Берги / Под ред. Дж. Хоулта.: 8-е издание: Пер. с англ. к.б.н. С.Ш. Тер-Казарьяна под ред. чл.-корр. АН СССР Г.А. Заварзина. — М., 1980.
5. Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Под ред. Н.С. Егорова. — М., 1995.

6. *Molecular bacteriology: Protocols and clinical applications* / Ed. N. Woodford and A.P. Johnson. — Humana press. — 1998. — P. 120.
7. Дедков В.С., Погребняк В.Б. Определение эндонуклеаз рестрикции в лизатах из отдельных колоний бактерий и измерение активности BamHI, PstI и MspI у бактерий, выращенных на питательном агаре и в бульоне // *Внехромосомные генетические элементы: значение для науки и практики: 6-е Рабочее совещание по программе «Плазмида».* Тезисы докладов. — М., 1981. — С. 50–51.
8. Дедков В. С., Десярев С.Х. Определение эндонуклеаз рестрикции в колониях микроорганизмов *Streptomyces* и *Nocardia* // *Прикл. биохимия и микробиология.* — 1992. — Т. 28. — С. 309–313.
9. Дедков В.С. Определение содержания G+C в ДНК бактерий при помощи эндонуклеаз рестрикции // *Биотехнология.* — 2004. — № 4. — С. 77–82.
10. Nazina, T.N., Tourova, T.P., Poltarau, A.B., Novikova, E.V. et al. Taxonomic study of aerobic thermophilic bacilli and descriptions of *Geobacillus subterraneus* gen. nov., sp. nov. and *Geobacillus uzonensis* sp. nov. from petroleum reservoirs and transfer of *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermocatenulatus*, *Bacillus thermoleovorans*, *Bacillus kaustophilus*, *Bacillus thermoglucosidasius* and *Bacillus thermodenitrificans* to *Geobacillus* as the new combinations *G. stearothermophilus*, *G. thermocatenulatus*, *G. thermoleovorans*, *G. kaustophilus*, *G. thermoglucosidasius* and *G. thermodenitrificans* // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* — 2001. — Vol. 51. — P. 433–466.
11. Sanger F., Coulson A.R., Hong G.F., Hill D.F., Petersen G.B. Nucleotide sequence of bacteriophage lambda DNA // *J. Mol. Biol.* — 1982. — Vol. 162. — P. 729–773.
12. Dunn J., Studier F. W. Complete nucleotide sequence of bacteriophage T7 DNA and the locations of T7 genetic elements // *J. Mol. Biol.* — 1983. — Vol. 166. — P. 477–535.
13. Sutcliffe J.G. Nucleotide sequence of the ampicillin resistance gene of *Escherichia coli* plasmid pBR322 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1978. — Vol. 75. — P. 3737–3741.
14. Yanisch-Perron C., Vieira J., Messing J. Improved M13 phage cloning vectors and host strains: nucleotide sequences of the M13mp18 and pUC19 vectors // *Gene.* — 1985. — Vol. 33. — P. 103–119.

Список сокращений

BSA-Ас — бычий сывороточный альбумин ацетилированный,
ДТТ — дитиотреитол,
ПЦР — полимеразная цепная реакция,
Трис — (оксиметил) аминометан,
ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота,
PMSF — фенилметилсульфонилфторид.

**NEW RESTRICTION ENDONUCLEASE GsaI, NEOSCHIZOMER OF BseYI,
RECOGNIZES 5'-CCCAGC(-1/-5)-3'**

V.S. DEDKOV, N.A. MIKHNENKOVA, E.V. KILEVA, G.V. TARASOVA, D.A GONCHAR,
A.G. AKISHEV, V.A. CHERNUKHIN, S.S. SHKIRJA, S.Kh. DEGTYAREV

SibEnzyme Ltd, Novosibirsk

New restriction endonuclease GsaI and a strain-producer of this enzyme are described in the work. According to Bergi manual and DNA structure of 16S PHK gene the strain-producer has been characterized as *Geobacillus stearothermophilus* Y. The enzyme is called GsaI. GsaI is a neoschizomer of BseYI, recognizes and cleaves 5'-CCCAGC(-1/-5)-3'. The enzyme with such cleavage site is described first time. GsaI produces unusual four nucleotides 3'-sticky ends, displays maximal and prolong activity at 70 °C within 16 hours. GsaI may be used as a new instrument in molecular biology experiments for DNA cleavage with formation of unusual sticky ends.

Keywords: restriction endonuclease, neoschizomer.

БАКТЕРИИ РОДА PSEUDOMONAS – УГЛЕРОДНЫЙ ЦИКЛ, ЗАЩИТА И СТИМУЛЯЦИЯ РАСТЕНИЙ

О.П. ГОРБУНОВ*

ООО БФ «Экофарм», Пушкино Московской области

Бактерии рода *Pseudomonas* являются антагонистами широкого спектра фитопатогенных грибов, вызывающих заболевания зерновых и овощных культур. Наряду с антагонизмом против патогенов этот род бактерий обладает способностью стимулировать рост и развитие растений, находясь в симбиозе с ними. Вот уже более 20 лет препараты на основе данных бактерий используются в сельском хозяйстве, конкурируя с химическими средствами защиты растений.

Разные штаммы (культуры бактерий), даже одного вида, обладают различной активностью против патогенов и различными способностями, стимулирующими рост растений. Поэтому отбор наилучших видов и штаммов постоянно ведется из различных коллекций микроорганизмов. В частности, в Институте биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН (Пушкино) имеется постоянно пополняемая коллекция более 1500 штаммов.

Официально зарегистрированы и внесены в список Госхимкомиссии 5 препаратов на основе штаммов рода *Pseudomonas*; это – Планриз, Агат 25, Псевдобактерин-2Ж, Елена, Бинорам Ж.

Препараты производятся в жидкой форме с титром от 2 млрд. до 500 млрд. клеток в 1 мл и ограниченными сроками хранения до 14 суток при комнатной температуре и 45 суток в холодильнике.

Жидкий биопрепарат защитного и стимулирующего действия на основе штамма *Pseudomonas aurofaciens* BS1393 Псевдобактерин-2Ж разработан и зарегистрирован ИБФМ РАН (свидетельство № 000306-0, госрегистрация № 02-0686-0151-0, ТУ 9291-001-0269970296, срок действия до 2013 г.). Эффект защитного действия основан на способности

штамма BS1393 синтезировать ряд антибиотиков феназинового типа. Основным действующим началом являются антибиотики феназин-1-карбоновая кислота и 2-оксифеназин-1-карбоновая кислота, эффективно подавляющие рост ряда фитопатогенных грибов и бактерий. Кроме того, штамм способен продуцировать сидерофоры, связывающие железо и делающие его недоступным для почвенных патогенов, синтезирует индолил-3-уксусную кислоту, являющуюся стимулятором роста растений, разлагает неорганические фосфаты, превращая их в форму, доступную для растений.

Применение препарата Псевдобактерин-2Ж в предпосевной обработке семян зерновых (яровых и озимых) пшеницы, ячменя и ржи в Краснодарском и Ставропольском краях, Воронежской, Липецкой, Тульской, Московской и других областях показало его исключительно высокую эффективность против гельминтоспориоза, офиоболитной гнили, фузариозных гнилей корневой системы и фузариоза колоса, мучнистой росы, снежной плесени и др. Биологическая эффективность препарата по отношению к вышеперечисленным болезням достигает 65–88%, как в случае предпосевной бактериализации семян, так и обработки вегетирующих растений.

За 15 лет применения препарата на овощных культурах, таких как картофель, сахарная свекла, огурцы и томаты в закрытом грунте, подтверждена его высокая биологическая эффективность против корневых гнилей, фузариоза, гельминтоспориоза, слизистого и сосудистого бактериоза, мучнистой росы, фитофтороза, ооскахитоза, бурой пятнистости томатов, ризоктониоза и других болезней корневой и надземной частей растений. Прибавка урожая на овощных культурах составляла от 20 до 40%.

Новая модификация препарата заключается в новой технологии его производства с титром 100 миллиардов живых клеток в одном миллилитре, увеличенном количестве феназина до 10 раз, увеличении срока сохранности препарата в обычных условиях в 2–3 раза.

* Автор для переписки:

© 2008 г. Горбунов О.П.

ООО Биотехнологическая фирма «Экофарм»

142290 Пушкино Московской обл., Науки пр-т, 5

В процессе производства штамм BS1393 активизируется на комплексную ферментативную активность, что делает возможным в комплексе с феназинами активизировать гиперпаразитизм на живых грибах, в том числе на патогенах, а также разрушению клеточных стенок, остатков грибов, ускоряя тем самым углеродный цикл за счет минерализации органических остатков, 60–70% которых достаются растениям в виде хорошо усваиваемых органических азота, фосфора, калия (N, P, K) и микроэлементов. (Известно, что 80–90% биомассы верхнего 20 см слоя почв составляют различные виды грибов. В разных климатических условиях это составляет от 1 до 10 тонн на 1 га).

Клеточная стенка грибов, состоящая из полисахаридов, хитина и глюкана, растворенная при помощи комплекса ферментов, выделяемых штаммом, до низкомолекулярного хитозан-глюканового комплекса, обладает высокими иммуностимулирующими свойствами, поднимающими иммунитет и защитные свойства корневой и вегетирующей части растений.

В конечном результате от внедрения данной технологии получается прибавка урожая от 20 до 50%. На примере озимой пшеницы увеличение качества за счет полновесности зерна, клейковины до 32 единиц и экологической чистоты конечного продукта.

Таблица 1

Результаты изучения эффективности применения биопрепаратов на яровом рапсе (сорт Ратник, 2007 г.)

№	Варианты опытов	Урожай семян, ц/га	Поражение мучнистой росой, балл***	Содержание			
				жир, %	белок, %	эруковая кислота, %	глюкозинолаты моль/г
«Елена»							
1	Контроль (без обработ.)	22,3	6,2	41,1	24,0	0,06	17,55
2	Круйзер (10 л/т семян)	24,4*	6,2	42,4*	23,5	0,11	17,52
3	10 мл/50 мл воды (сем.)	20,2**	6,5	41,6	24,5	0,06	16,97**
4	10 мл/100 мл воды (сем.)	21,3	6,3	42,0*	23,7	0,11	16,12**
5	100 мл/1 л воды (вегет.)	24,7*	6,0	42,5*	22,5**	0,09	16,49**
	НСР ₀₅	1,61	—	0,47	1,00	—	0,38
Псевдобактерии (ПС-2Ж)							
1	Контроль (без обработ.)	21,2	6,0	41,5	23,9	0,15	18,26
2	Круйзер (10 л/т семян)	23,2*	6,3	41,5	23,7	0,11	16,38**
3	10 мл/50 мл воды (сем.)	21,7	6,0	41,3	23,7	0,07	17,55**
4	10 мл/100 мл воды (сем.)	22,3	6,2	41,2**	24,3	0,05	16,15**
5	100 мл/1 л воды (вегет.)	24,0*	6,5**	40,2**	25,7*	0,12	16,15**
	НСР ₀₅	1,42	0,32	0,21	1,15	—	0,34

Примечание:

* — достоверно превышает контроль (st),

** — достоверно уступает стандарту (st),

*** — оценка по 9-балльной шкале.

Новый биопрепарат «Елена-Ж», разработчик и регистрант ГУП «Опытный завод» АнРБ г. Уфа. Свидетельство госрегистрации № 0500-06-107-157-1-1-3-0 ТУ 9291-017-22657427-2002. Прошли два года после регистрации. Послерегистрационная проверка в промышленных и лабораторных условиях в Липецкой, Воронежской, Тамбовской, Омской, Волгоградской, Тюменской областях, Краснодарском и Ставропольском краях, Республике Мордовия и других регионах РФ подтвердила высокую биологическую эффективность 70–80% против болезней корневой и вегетирующих частей растений. Расширен спектр подтвержденных фунгицидных, антибактериальных, стимулирующих свойств препарата (действующее вещество — триглицеридпептид) и защищаемых зерновых, овощных, садовых культур.

Это выразилось в повышении урожайности и качестве продукции. Создана новая модификация препарата «Елена-Ж», аналогичная «Псевдобактерину-2». Чередование при применении данных препаратов уменьшает резистивность, то есть привыкание к ним патогенов.

Новая модификация препаратов «Псевдобактерин-2 Ж» и «Елена-Ж» с титром 50–70 млрд. живых клеток в 1 мл имеет сохранность 30 дней в обычных условиях и 45–60 дней — в холодильнике. В дополнение к высокой биологической активности препараты активизированы на ферментативную активность против грибных патогенов и их остатков, что делает данные препараты

высокоэффективными по отношению к химическим и другим биологическим препаратам на рынке.

В таблице 1 приводятся результаты 2007 года в хозяйстве Елецкого района Липецкой области в условиях засушливого лета. Данное хозяйство работает более 20 лет с биологическими препаратами: 5 лет — Агат25 и более 15 лет — Псевдобактерин-2Ж, а последние 6 лет — с новой модификацией Псевдобактерин-2Ж и Елена-Ж на всей площади зерновых культур с применением двух обработок по вегетации, по кущению и флагу.

Препаратов с аналогичными технологичными и экономическими параметрами пока не существует.

Литература:

1. *Ершов Ю.И.* Органическое вещество биосферы и почвы. — Новосибирск: Наука, 2004.
2. *Кудяров В.Н. и др.* Пулы и потоки углерода в наземных экосистемах России. — М.: Наука, 2007. — 315 с.
3. *Заварзин Г.А., Колотилова Н.Н.* Введение в природо-ведческую микробиологию. — М.: Университет, 2001.
4. *Мюллер Э., Леффлер В.* Микология. — М.: Мир, 1995.
5. *Гарибова Л.В., Лекомцева С.Н.* Основы микологии. — М., 2005.
6. *Емцев В.Т., Мишустин Е.Н.* Микробиология. — М.: Дрофа, 2006.
7. Структурно-функциональная роль почв и почвенной биоты в биосфере. — М.: Наука, 2003.
8. Молекулярные основы взаимодействия ассоциативных микроорганизмов с растениями. — М.: Наука, 2005.

БИОЭКОНОМИКА КАК СЛЕДУЮЩИЙ ШАГ РАЗВИТИЯ – ШАНС ДЛЯ РОССИИ

Р.Г. ВАСИЛОВ*

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

Значение биотехнологии в современном мире

В реальностях XXI века биотехнология приобрела первостепенное значение наряду с таким направлением, как информатизация. Пожалуй, в спор за приоритет среди этих отраслей может вступить лишь социальная психология, призванная решить многообразие проблем, стоящих перед всем человечеством в плане демографии, этнокультурной и религиозной терпимости, межличностных и межгосударственных отношений и т.д.

Биотехнологию принято определять как направление научно-технического прогресса, использующего биопроцессы и биообъекты для получения полезных человеку продуктов и улучшения качества его жизни. Поэтому вполне понятна всё возрастающая роль биотехнологии в решении глобальных проблем: здесь и питание, и лекарственное обеспечение, и биоэнергетика, и экология и др. Конкретно она вносит и вносит вклад в решение таких проблем, как обеспечение продовольствием растущего населения Земли, принципиальное улучшение медицины, предотвращение деградации среды обитания и глобального изменения климата, смягчение кризиса истощения ископаемых ресурсов и др.

Запад и Восток давно поняли истинное значение биотехнологии и вкладывают в ее развитие огромные ресурсы. Хорошо осознавала это и наша страна в 70–80-е годы XX века, когда она была одной из ведущих биотехнологических держав. Однако в силу разных причин данный приоритет был утрачен, и в настоящее время России предстоит определиться, вступать ли ей в

мировую конкурентную биотехнологическую гонку, или отстать навсегда.

Статистика свидетельствует о крайне неблагоприятном для РФ соотношении. Сейчас ее доля в мировом объеме биотехнологической продукции не превышает 0,2% (четверть века назад – 5%), а для сравнения: США – 42%, Евросоюз – 22%, Китай – 10%, Индия – 2%.

За этими цифрами стоят реальные дела. В США на протяжении последней четверти века осуществляется целенаправленная деятельность по поддержке биотехнологии: приняты федеральные законы, способствующие бизнесу в этой сфере, вкладываются крупные инвестиции (в фундаментальные исследования, биофармацевтику, биоэнергетику, выращивание ГМО и др.). Евросоюз разработал долгосрочную стратегию в области биотехнологии с выраженной экологической направленностью, осуществляет мощную финансовую поддержку (на 2008–2013 гг. запланировано выделить более 50 млрд. евро).

В последнее время активно развиваются биотехнологические производства в Китае, Индии, Бразилии, Японии и других странах. Особенно поражает бурный прогресс Индии, которая, стартовав в данной отрасли в начале 2000-х годов, уже в 2006 г. вышла на уровень дохода 2 млрд. долларов в год, обеспечив ежегодные темпы роста 37%. О размахе биотехнологии в Китае свидетельствует такая цифра, как планируемый выход к 2020 году на уровень биотехнологического производства порядка 500 млрд. долларов.

Перечисление разрозненных фактов по этому вопросу излишне. Следует указать на общую характеристику происходящего в мировом масштабе процесса, обусловленного внедрением биотехнологии во все сферы жизни. Другого слова, кроме как глобальный биотехнологический бум, не придумаешь. Фактически биотехнология из рядовой отрасли превращается в систе-

* Автор для переписки:

© 2008 г. Василев Раиф Гаянович

профессор, президент Общества биотехнологов России

им. Ю.А. Овчинникова

Тел.: (495) 648-09-13

E-mail: raifvasilov@biosinfo.ru

мообразующий, ведущий фактор, определяющий макроэкономику отдельных государств и мировую экономику в целом. Появился специальный термин, обозначающий этот феномен — «экономика, основанная на знаниях» («bio-based economy»).

Согласно прогнозам, к 2010 году глобальная рыночная стоимость секторов, связанных с биотехнологией (не включая сельское хозяйство), составит свыше 2 трлн. евро. По оценке Файнэншл Таймс, сектор биотехнологии и фармацевтики по капитализации занимает третье место, уступая только нефтегазовому и банковскому.

Биотехнология в нынешней России

На фоне триумфального шествия биотехнологии по планете успехи отечественной биотехнологии выглядят в явно неудовлетворительном свете. По уровню развития биоиндустрии сейчас она занимает 70-е место в мире. Наблюдается отставание России в отношении количества и качества публикаций в области биотехнологии (это же касается и патентов).

Биотехнологическая промышленность РФ производит дженерики (на их долю приходится 98% продукции), причем, главным образом, это — устаревшие препараты, а современные высокотехнологичные продукты составляют 10%. Биотехнологические предприятия в основном оснащены устаревшим и изношенным оборудованием.

Даже по оптимистическому сценарию прогнозируется, что к 2010 г. Россия будет производить лишь 0,25% мирового объема биотехнологической продукции. Это обусловлено отчасти недостаточным финансированием научно-практических разработок в области биотехнологии, а самое главное — отсутствием государственной стратегии в данном вопросе.

Однако констатация пессимистической ситуации в биотехнологии не закрывает перспективы ее развития в нашей стране. Россия имеет все возможности, чтобы войти в число государств, активно развивающих биотехнологию, и занять свое достойное место. Этому способствуют: высокий образовательный и научно-технологический потенциал; наличие ключевых факторов для развития микробиологической промышленности (дешевой энергии, пресной воды, ресурсов для интенсивного развития сельского хозяйства); обширная территория; благоприятная экономическая конъюнктура.

По совокупности указанных параметров РФ имеет наиболее благоприятные условия для развития биотех-

нологической промышленности по таким направлениям, как биотопливо, микробиологический синтез, химия на основе возобновляемого сырья.

В настоящее время много говорится о нанотехнологиях. Этот термин стал даже журналистским штампом. Специалистам разных профилей, безусловно, ясно, о чем идет речь. Для представителей технических наук здесь, как правило, подразумевается переход на манипулирование в масштабе миллиардных долей метра или иных малых дольных единиц. Естественно, это и есть уровень XXI века. Тем не менее для широкого читателя нужно дать разъяснение, что химия уже два столетия работает в nano-шкале на уровне молекул и атомов. Это же относится и к таким ветвям химии, как биохимия, физико-химическая и молекулярная биология, — научным основам биотехнологии, расцвет которых пришелся на последнюю четверть XX века.

В связи с этим при провозглашении нанотехнологий в качестве национального приоритета автоматически должна признаваться правомерность развития и поддержки биотехнологии. Использование термина «бионанотехнологии» (или «нанобиотехнологии») не снимает актуальности и значимости биотехнологии как самостоятельного направления в современной системе знаний. Более того, биотехнология работает с объектами и в других измерениях, кроме наносферы. Следовательно, биотехнология должна рассматриваться как отдельный научно-практический приоритет, имеющий дело не только с предметами определенного размера, но и в первую очередь — с процессами, причем, крайне специфичными.

Для реализации вышеуказанной возможности необходимо срочно решить ряд проблем. Биотехнология должна быть признана приоритетом государственной политики с адекватными способами организационной и финансовой поддержки, включая законодательное регулирование, программно-целевой подход, привлечение федерального и регионального уровней, стимулирование бизнеса и государственно-частного партнерства.

В случае принятия решения о государственной поддержке развития биотехнологии в масштабах страны разрабатываются целевые ориентиры, на достижение которых должна быть направлена соответствующая национальная программа.

Программно-целевой подход как способ решения задач в области биотехнологии

Рассматривая вопрос об ускоренном развитии отечественной биотехнологии, необходимо оценить весь

перечень мероприятий, которые проводятся в данной области государством, бизнесом и обществом. Следует подчеркнуть, что в последние годы увеличился объем бюджетных ассигнований на фундаментальную биологическую науку и прикладные работы в сфере медицины и сельского хозяйства. Средства выделяются как в рамках федеральных целевых программ, так и целевой бюджетной и внебюджетной поддержки научно-исследовательских и производственных организаций и бизнес-структур.

Между тем прогресс в биотехнологической отрасли настолько стремителен, что государственный механизм регулирования бюджетных программ и целевого выделения средств не поспевает за ним. Не зря во всем мире говорят о череде революций в биотехнологии, следующих одна за другой (красная, зеленая, белая).

В связи с этим во многих странах используется механизм общественной инициативы, когда квалифицированные эксперты выступают с обоснованными предложениями в той или иной актуальной области знаний. В Российской Федерации с подобной инициативой 3 года назад выступило Общество биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова. Оно разработало долгосрочную (до 2015 года) комплексную программу, основанную на различных механизмах бюджетной и внебюджетной поддержки (включая государственно-частное партнерство) и направленную на ускоренное развитие биотехнологии в стране.

Концепция этой программы, носящей статус национальной (общегосударственной), состоит в интеграции возможностей государства, бизнеса и общества вокруг проблемы биотехнологии и реализации приоритетных проектов федерального и регионального уровней, ориентированных на решение экономических и социальных задач.

В настоящем журнале тема этой программы уже освещалась (Воробьев А.А., Василов Р.Г., 2005) [1]. В ее развитие следует подчеркнуть, что наиболее продвинутым оказалось направление, связанное с региональными программами. Сейчас такие программы разрабатываются в ряде регионов (Кировская область, Республика Татарстан, Республика Карелия, Саратовская область и др.), а в Чувашской Республике она уже принята, утверждена президентом и реализуется.

Имеется ощутимый прогресс в области осуществления ряда целевых проектов. Так, например, проект по биотопливу получил поддержку на федеральном и региональном уровнях; здесь установлен весьма полезный творческий контакт с Национальной биотопливной ассо-

циацией (президент — А.Р. Аблаев). Хорошо развивается образовательный блок благодаря функционированию Учебно-научного центра по физико-химической биологии и биотехнологии на базе Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (этот проект курируют В.И. Швец и Т.В. Овчинникова). Деятельность данного центра отмечена премией Правительства РФ 2007 года в области образования. Актуальны и востребованы проекты по морской и ветеринарной биотехнологии, которые включены в Седьмую Рамочную программу ЕС по научно-исследовательскому, технологическому развитию и демонстрационной деятельности (2007–2013 гг.).

Многое сделано в сфере правового регулирования. С этой целью были проведены круглые столы в Государственной Думе Федерального Собрания РФ: 8 февраля 2005 г. — «Законодательное обеспечение развития биотехнологической области промышленности» [2], 7 июня 2007 г. — «О законодательном регулировании развития химико-фармацевтической и биотехнологической промышленности». К числу ценных рекомендаций круглых столов следует отнести предложение о создании специального государственного координирующего органа федерального уровня, а также государственной корпорации в этой сфере. Важным следствием указанных парламентских мероприятий стало также формирование постоянно действующего Экспертного совета по биотехнологической отрасли промышленности при Комитете Госдумы ФС РФ по промышленности, строительству и наукоемким технологиям.

Существенным моментом является поддержка со стороны политической партии «Единая Россия» в деле реализации программы, равно как и деятельности Общества биотехнологов России по возрождению отечественной биотехнологии. В настоящее время прорабатывается вопрос о придании программе статуса приоритетного партийного проекта.

Реальные возможности биотехнологии XXI века. Биоэкономика

Небезынтересно привести прогностические оценки о возможностях современной биотехнологии, которая становится основополагающим макроэкономическим фактором, то есть реальной базой биоэкономики с ее практически неограниченными ресурсами [3]. По оценкам McKinsey Group, мировой рынок биохимической продукции к 2020 г. будет составлять \$280 млрд. 20% (\$280 млрд./год) мирового рынка химической продук-

ции (\$1,4 трлн./год) будет замещено биопродуктами и биотехнологиями. Из них \$160 млрд./год будут составлять новые продукты.

Согласно прогнозам Royal Dutch Shell, мировой рынок биоэнергетики к 2050 г. достигнет уровня \$150 млрд. 30% общей мировой потребности в энергии будет обеспечиваться возобновляемыми источниками. Известно также, что в США планируется к 2030 г. заменить на биотопливо 1/3 от общей потребности в топливе. Мировой рынок биофармацевтической продукции к 2010 году прогнозируется в объеме \$50 млрд.

Целевые показатели России

На фоне столь высоких мировых объемов целевые показатели РФ должны выглядеть относительно умеренными и согласованными с реальными возможностями экономики. Выше уже говорилось о благоприятной стартовой позиции. С учетом этого можно выйти на следующие ориентиры.

Так, производство пищевого и кормового белка должно быть доведено до уровня 1 млн. т в год. Намечается к 2015 г. снижение импорта сахара на 20% за счет организации производства глюкозо-фруктозных сиропов в объеме не менее 1 млн. тонн. Импортозамещение к этому времени по основным группам жизненно важных лекарств должно составить не менее 30%.

Безусловно, Россия должна постепенно выйти на уровень 5%-ного замещения углеводородного моторного топлива за счет налаживания производства биотоплива — биодизеля, биоэтанола, биогаза (независимо от конъюнктуры нефтегазового рынка).

В стратегическом плане биотехнология как интегральная база экономического развития страны обеспечит реализацию национальных приоритетных проектов, формирование инновационной системы, даст стимул социально-экономическому развитию регионов, повысит конкурентоспособность государства в условиях глобализации.

Этические проблемы. Глобализация

В сфере биотехнологии, помимо научных и производственных моментов, нередко выходит на первый план этический аспект. Речь идет о восприятии обществом поистине революционных достижений в области геной инженерии, клеточных технологий, клонирования и др. Происходит поляризация мнений

от безудержного оптимизма и безоглядного принятия всех нововведений до огульного отрицания самого факта научно-технического прогресса. Общеизвестны дискуссии о генетически модифицированных организмах (ГМО), искусственном оплодотворении, клонировании человека, целесообразности получения биотоплива из зернового сырья и т.д.

Все эти важные вопросы предстоит решать биотехнологам, которые должны вести соответствующую разъяснительную работу с целью достижения социальной гармонии и недопущения бесконтрольного применения новых продуктов.

Осуществление общегосударственной программы по биотехнологии наряду с научно-практическими задачами решит и большинство этических вопросов и разногласий в обществе, поскольку будет привлекать в свой круг ведущих ученых, экспертов, бизнесменов, которые в режиме реального времени будут отслеживать возникающие спорные проблемы и предлагать оптимальные выходы из тупиков. Если же будет продолжаться инерция безразличия к бурному прогрессу биотехнологии в мире, то нашей стране уготована участь колониального государства, безоговорочно принимающего правила игры развитых стран и транснациональных корпораций.

Никто пока не просчитывал последствия вступления РФ в ВТО для становления и развития национальной биоиндустрии. Сегодня весь мир борется против корпоративной глобализации, одним из инструментов которой является ВТО как проводник интересов корпораций, а не народов и государств.

В России в настоящее время в сфере биотехнологии нет ни одной национальной корпорации мирового уровня, которая могла бы конкурировать с транснациональными корпорациями. После вступления в ВТО их появление будет значительно осложнено, равно как и приоритетное развитие отечественной биоиндустрии.

Мы обоснованно пытаемся сохранить под собственным контролем доступ к ископаемым природным ресурсам (нефть, газ), а в то же время открываем настежь двери зарубежным компаниям для установления контроля над биоресурсами (землей, водой, лесом), которые уже в ближайшее время станут главной ценностью на мировом рынке.

Отсюда очевиден вывод, что без собственной стратегии и программы развития национальной биоиндустрии мы безоружны перед действиями своих глобальных конкурентов не то что на мировой, но даже на своей территории.

**Конгресс и выставка «ЕвразияБио» —
площадка для развития биотехнологии
на евразийском пространстве**

Кроме реализации программно-целевого подхода для ускоренного развития биотехнологии, по нашему мнению, выглядит также привлекательной идея одновременного проведения конгресса и выставки «ЕвразияБио» — мероприятия, действующего на постоянной основе и осваивающего постсоветское и евразийское пространство в тесном сотрудничестве с мировыми биотехнологическими центрами Европы, Азии, Америки. Сейчас этот замысел уже материализуется — в апреле 2008 года первый такой международный конгресс и выставка по биотехнологии, биоэнергетике и биоэкономике «ЕвразияБио-2008» состоится в Москве, в Центре международной торговли. Открыт сайт: <http://www.eurasiabio.ru>. Далее планируется проводить конгресс не реже одного раза в год в крупных городах. Мы надеемся, что данное мероприятие имеет будущее и послужит интеграции всех заинтересованных специалистов, компаний, финансовых структур вокруг перспективной идеи возрождения биотехнологии и создания эффективной биоэкономики в России и странах СНГ.

Литература

1. Воробьев А.А., Васильев Р.Г. Концепция, структура и механизмы реализации Национальной программы «Развитие биотехнологии в Российской Федерации на 2006–2015 гг.» // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. — 2005. — Т. 1. — № 2. — С. 44–49.
2. Законодательное обеспечение развития биотехнологической отрасли промышленности: Материалы круглого стола в Государственной Думе РФ. 8 февраля 2005 г. — М.: «Русская панорама», 2005. — 144 с.
3. Васильев Р.Г. Биотехнология как национальный приоритет России на ближайшую и отдаленную перспективу // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. — 2006. — Т. 2. — № 4. — С. 24–25.

Интернет-источники

www.biorosinfo.ru

<http://www.bioplivo.ru>

СОЗДАНИЕ БИОАКТИВНЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ИЗ МОРСКИХ ГИДРОБИОНТОВ

В.В. ВОРОБЬЕВ*

Московский государственный университет технологий и управления

В настоящее время острой государственной проблемой являются: ухудшение состояния здоровья людей и увеличение числа россиян с хроническими заболеваниями; значительно превосходящий рождаемость уровень смертности, особенно в младенческом и трудоспособном возрастах; снижение численности молодого поколения и демографический кризис. Прошедшие полтора десятилетия свидетельствуют о значительном ухудшении состояния здоровья россиян, особенно подрастающего поколения, высоком уровне смертности — в 1,5 раза превышающем рождаемость, и угрожающей экономическому развитию страны депопуляции населения [2].

Сложившаяся ситуация во многом объясняется состоянием неадекватного обеспечения населения лекарственными средствами и структурой фармацевтического рынка с преобладанием импортных медикаментозных препаратов, ведущими к нарастающей угрозе национальной безопасности России.

В условиях динамического роста российского фармацевтического рынка доля отечественной продукции резко сократилась: с 60% в 1991 г. до 3% в 2006 г. При этом, по данным Минздравсоцразвития России, государственные затраты на закупку оригинальных (новых) импортных препаратов составляют 32%, импортных дженериков — 52%, отечественных воспроизведенных лекарств, в том числе из импортных субстанций — 15% и оригинальных российских препаратов — 1% [1].

В настоящее время в России зарегистрировано около 18000 лекарственных препаратов, большая часть из которых является импортными дженериками, имею-

щими разные торговые названия. Существующее положение льготного регистрирования импортных препаратов объясняется тем, что российское законодательство не предусматривает обязательного контроля производства лекарств за рубежом, а осуществляет его только на отечественных предприятиях. Сегодня врачи предпочитают выписывать импортные лекарства, считая их более эффективными, что не соответствует действительности.

Отсутствие современной отечественной медикаментозной базы для профилактики и лечения инфекционных и социально значимых болезней во многом обусловлены рядом причин:

1. Износ устаревшей производственной базы и сворачивание выпуска фармакологических субстанций и готовых лекарственных форм. Лишение фармацевтической науки государственной поддержки. Узаконивание преференций и льгот иностранным инвесторам, расширяющим рынки сбыта импортной лекарственной продукции.

2. 93% фармацевтической продукции — импортные лекарственные средства и субстанции, среди которых крайне низка доля новых эффективных препаратов. От 70 до 82% всего объема импортных лекарств составляют созданные 20–35 лет назад препараты-дженерики, выпускаемые многими производителями более чем в 60 странах Европы, Америки и Азии и имеющие преференциальный режим при экспорте в Россию, что обуславливает доступно низкие цены на рынке. Многие группы дженериков характеризуются невысокими фармакодинамическими свойствами и степенью биодоступности, повышенным уровнем токсичности и не соответствуют современным стандартам клинической эффективности и безопасности.

3. Значительная часть многих современных фармакологических препаратов для лечения социально значимых болезней, являющихся основными причинами смертности населения, из-за их высокой стоимости не доступна большинству россиян. Это — лекарственные

* Автор для переписки:

© 2008 г. Воробьев В.В.

д.т.н., профессор кафедры

«Технология продуктов питания и экспертизы товаров»

Московского государственного университета

технологий и управления

средства для лечения злокачественных новообразований, сердечно-сосудистых, инфекционных и нейропсихиатрических заболеваний, диабета, ревматизма, артрита и др.

4. По экспертным оценкам, на фармацевтическом рынке РФ доля фальсифицированных медикаментозных средств, не отвечающих требованиям фармакопеи и безопасности современных стандартов, с критическим и истекшим сроком хранения, достигает 45–60%, что подвело к реальной угрозе лекарственной биобезопасности государства и нанесло ущерб здоровью россиян от закупаемых импортных препаратов по программе ДЛО.

5. Отсутствие системы мониторинга медикаментозных осложнений от приема лекарственных средств и путей их устранения. 25–30% всех негативных эффектов обусловлены быстро развивающейся резистентностью патогенных бактерий и микроорганизмов ко многим специфически действующим на клеточном уровне антибиотикам, обладающим очень большим спектром противопоказаний и побочных действий, что также характерно и для других групп лекарственных средств.

6. Отсутствие действующей государственной системы специализированного контроля по качеству и безопасности отечественных и импортных лекарственных средств и субстанций. В настоящее время ее еще продолжают формировать.

Урбанизация и техногенный прессинг, неблагоприятное влияние экологических факторов увеличили число стрессовых воздействий на человека, сопровождавшихся значительным ослаблением основных жизнеобеспечивающих функций организма, повреждением регуляторных механизмов поддержания структурного гомеостаза, развитием вторичных иммунодефицитных состояний. Это привело к увеличению многочисленных инфекционных заболеваний, усугубляющихся появлением возбудителей, обладающих множественной лекарственной устойчивостью к антибиотикам и другим препаратам. Значимое воздействие на здоровье человека оказывают негативные изменения в окружающей среде, в которой главной мишенью стала репродуктивная система. Основным фактором, вызывающим нарушение репродуктивной функции, является большая группа репродуктивных токсикантов и, прежде всего, — гормоноподобные ксенобиотики, к которым относятся и многочисленные классы пищевых добавок и вкусоароматические химические вещества.

Многие фармацевтические препараты не обладают достаточно эффективными лечебными свойствами. Применение для лечения заболеваний позвоночника и суставов (ревматоидный и псориатический артрит,

остеоартрит, деформирующий остеоартроз, подагра и др.), обусловленных дегенерацией и деструкцией соединительной и хрящевой ткани, нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) (бутадион, оксифе-нилбутазон, идометацин, вольтарен, ортофен, бруфен и др.), препаратов базисной терапии (кризанол, купренил, делагил, резохин и др.) и цитостатических иммунодепрессантов (азатиоприн, хлорбутин) приводит к серьезным осложнениям в 30–60% случаях. При этом угнетается биосинтез простагландинов, побочным негативно опасным воздействиям подвергаются пищеварительная, сердечно-сосудистая и центральная нервная системы, органы чувств и кроветворения. НПВП могут нарушать свертываемость крови, вызывать угнетение стволовых клеток костного мозга, повреждение почек и печени, могут задерживать воду и натрий, повышать артериальное давление, вызывать головные боли, бронхоспастические явления и аллергические дерматозы [3].

В последнее десятилетие в связи с эпидемией «коровьего бешенства» и «птичьего гриппа» происходит пересмотр и отказ от изготовления лекарственных средств и субстанций из сырья животного происхождения. При создании и производстве лекарственных препаратов полученные компоненты, в том числе и желатин, из сырья животного происхождения могут нести в себе опасность контаминации прионами, инфекционными агентами, протоонкогенами или нуклеиновыми кислотами и другими потенциально угрожающими здоровью веществами. Министерство здравоохранения Японии запретило использование при изготовлении лекарств и других медицинских продуктов ингредиентов из органов и тканей крупного рогатого скота, свиней, овец и коз, произведенных в 29 странах мира в связи с опасностью заболевания «коровьим бешенством». Под запрет попали 9 европейских государств, в которых были зарегистрированы случаи заболевания скота губчатым энцефалитом (Великобритания, Швейцария, Франция и др.) и Оман, а также еще 20 стран, где, предположительно, распространено это заболевание [4].

По этому пути пошли и другие страны. Распространившийся по континентам вирус «птичьего гриппа» исключает возможность получения ряда биологически активных веществ (БАВ) из птицы, в том числе, гиалуроновой кислоты из гребней петушков, стоимость 1 г которой составляет 20 тыс. долларов.

Актуальной во всем мире становится разрастающаяся проблема опасной лекарственной терапии. Ежегодно в США количество летальных исходов, связанных с неправильным применением лекарственных веществ,

исчисляется сотнями тысяч. По данным эпидемиологических исследований, побочные эффекты лекарственной терапии в США и Канаде выходят на 4–6-е место среди причин смерти после сердечно-сосудистых, онкологических, бронхолегочных заболеваний и травм [5]. Частота их развития достигает 17% у госпитализированных больных и 4–6% — у амбулаторных пациентов. 25–30% всех побочных эффектов обусловлены приемом антибиотиков. В связи с развитием побочных реакций лекарственных средств в США ежегодно госпитализируется 3,5–8,8 млн. человек и погибает 100–200 тыс. пациентов [6]. Более 2,2 млн. американцев получают осложнения, а 30% пациентов не получают улучшения здоровья от лечения правильно выписанных и правильно принимаемых лекарственных препаратов. Ряд препаратов приобрел печально-скандальную известность: тизабри — для лечения рассеянного склероза, феривастин, Vioxx, аспирин и др.

Подобная статистика отмечается и в других странах. Так, во Франции в 1997 г. до 10% случаев госпитализации были связаны с развитием нежелательных эффектов лекарственной терапии. В Германии аналогичный показатель составил 5,8% [6].

На современном этапе научно-технического развития, в условиях усиливающегося сырьевого «голода», особо остро проявляющегося в области биологически активных веществ как основы фармакологических препаратов, изучение и разработка методов извлечения БАВ и химических соединений из морских гидробионтов, использование их при создании оригинальных эффективных лекарственных средств и активной фармакологической субстанции, фосфолипидных систем для диагностики и доставки лекарственных форм является наиболее перспективной и значимой для академической и отраслевой науки, и практической медицины.

Основной причиной, обуславливающей необходимость поиска БАВ среди метаболитов морских организмов, является постоянно возрастающая цена на новые лекарственные препараты, основу которых составляют дорогостоящие БАВ растительного сырья и теплокровных животных, целесообразность получения эффективных лекарственных компонентов и активных фармакологических субстанций из которых достигла своего разумного предела по ресурсным, экологическим, санитарно-эпидемиологическим и экономическим факторам.

В 70–80-х годах прошлого века в США, Японии и многих других странах это способствовало поискам новых альтернативных источников БАВ и различных

химических соединений, прежде всего, из продуцентов морских гидробионтов, дефицитность и стоимость которых априори делают рентабельным промысел нетрадиционных морских биоресурсов, получение биологически активных лекарственных субстанций и создание оригинальных эффективных фармакологических препаратов. Среди продуктов жизнедеятельности морских организмов были выделены БАВ, вызвавшие большой интерес клиницистов и представителей фарминдустрии, — группа цефалоспориновых антибиотиков, нуклеозиды, нереизтоксин, эдеоизин, тритерпеновые гликозиды и многие другие субстанции с различным спектром фармакологической активности.

Однако определяющим для проблемы БАВ, явилось обнаружение в морских организмах простагландинов и их предшественников — полиненасыщенных омега-3 жирных кислот в количествах, во много тысяч раз превышающих их концентрацию в тканях известных наземных теплокровных животных и сырье растительного происхождения.

При использовании в качестве фармакологических субстанций простагландины предупреждают тромбообразование, активируют функцию печени, почек, вызывают вазодилатацию и нормализуют артериальное давление, стабилизируют биохимию тканей поврежденного миокарда и многое другое. Особенно велико значение простагландинов в репродуктивных процессах — в оплодотворении яйцеклетки и обеспечения нормального течения беременности.

При применении современных методов переработки морских гидробионтов можно получить следующие группы БАВ: *стероиды* (гормоны, стерины, сапонины), *терпены* (дитерпены, тритерпены и др.), *изопреноидные соединения* (убихиноны, каротиноиды, фуранотерпены, витамины А, Д и др.), *неизопреноидные соединения* (простагландины), *хиноны*, *бромированные соединения* (производные бензола, пиррола, гуанидина, индола; алкалоиды), *азотсодержащие гетероциклические соединения* (тетродотоксин, сакситоксин), *пептиды* (изотоцин, окситоцин, глумитоцин и др.), *производные пурина*, *полиненасыщенные омега-3 жирные кислоты* и др. В странах с развитой фарминдустрией из БАВ морских организмов разрабатываются и производятся оригинальные эффективные лекарственные препараты, имеющие очень большой спрос среди лечащих врачей.

Мировой зарубежный опыт морской фармации свидетельствует об огромном потенциале использования морских гидробионтов для создания оригинальных лекар-

ственных средств широкого спектра назначения и, прежде всего, для лечения социально значимых болезней.

В этом направлении в нашей стране работают Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского (ИБМ) и Тихоокеанский институт биоорганической химии (ТИБОХ) Дальневосточного отделения РАН. Среди морских организмов проводится поиск, выделение и установление химического строения ряда новых природных соединений. В последнее время из разнообразных морских беспозвоночных выделено более 100 индивидуальных вторичных метаболитов, в том числе 49 новых природных соединений, ранее неизвестных сфинголипидов, алкалоидов, полигидроксистероидов, стероидных и тритерпеновых гликозидов, установленные структуры которых свидетельствуют об уникальности и наличии функционального биологически активного начала.

В ТИБОХ ДВО РАН созданы и зарегистрированы пять лекарственных препаратов — гистохром (антиоксидантный), коллагеназа (ранозаживляющий) и др., которые вошли в медицинскую практику и на фармацевтический рынок и выпускаются небольшими партиями по причине отсутствия промышленных технологий и производственных мощностей по наработке биологически активной лекарственной субстанции из гидробионтов.

Наибольший интерес в фармакологическом аспекте представляют эссенциальные жирные кислоты гидробионтов омега-3 ряда, содержащиеся только в морском биосырье. В классе полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) содержание биологически активных омега-3 ряда жирных кислот — эйкозапентаеновой и докозагексаеновой, обладающих широким диапазоном лечебных эффектов, составляет в рыбе 62—87%, моллюсках — 52—68%.

При введении в организм омега-3 жирных кислот в лекарственной форме или активной фармакологической субстанции они включаются в липидный бислой клеточных мембран, регулируя их микровязкость, проницаемость, энергетические свойства, снижая возбудимость, формируя соответствующее липидное окружение мембранных белков и ферментов. Увеличение их содержания в структуре клеточных мембран обуславливает повышение чувствительности инсулиновых рецепторов к гормону и соответственное снижение гиперинсулинемии, что тормозит развитие атеросклероза и других сердечно-сосудистых заболеваний. Как антиатеросклеротический фактор ПНЖК омега-3 ряда способствуют метаболизму холестерина в печени и его выведению из организма, а также выступают как ингибиторы

ГМГ-редуктазы — фермента, контролирующего биосинтез холестерина. В этом плане омега-3 полиеновые жирные кислоты действуют аналогично статинам, но значительно мягче.

При недостатке в организме омега-3 ПНЖК их место занимают поступающие с пищей омега-6 полиеновые кислоты, в частности, линолевая кислота, что при недостаточности фермента $\Delta 6$ -десатуразы (в особенности у диабетических больных) приводит к относительному уменьшению содержания полиненасыщенных жирных кислот с 20—22 углеродными атомами в фосфолипидах биомембран и развитию инсулинорезистентности. Особенно неблагоприятные изменения происходят при включении в мембранные липиды трансненасыщенных жирных кислот, содержащихся в гидрогенизированных жирах (в маргаринах их содержание составляет 10—15%). Это существенно увеличивает риск сердечно-сосудистых заболеваний и сахарного диабета, поскольку связано с нарушением функций мембранного аппарата клеток [7].

Являясь антагонистами арахидоновой кислоты, омега-3 ПНЖК конкурентно включаются во «2-е положение» молекулы фосфолипидов мембранных структур клеток различных органов (печень, клетки эндотелия, тромбоциты), изменяя вязкостные свойства биомембран и создавая резерв мембранных полиненасыщенных жирных кислот, необходимый для поддержания стационарного уровня соответствующих эйкозаноидов. Синтезируемые клетками из ЭПК и ДГК эйкозаноиды — простагландины, простаглицлины, тромбоксаны и лейкотриены, являются высокоактивными регуляторами клеточных функций. При терапевтическом применении результатом действия омега-3 ПНЖК является уменьшение вазоконстрикции и усиление вазодилатации, уменьшение агрегации тромбоцитов и снижение интенсивности воспалительных процессов.

В ходе исследований, проведенных в ИБМ ДВО РАН, определено, что при стабилизации химической структуры омега-3 ПНЖК их биологическая активность возрастает, что позволит создать оригинальные биологически активные субстанции и лекарственные препараты с кардиопротективными свойствами для лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Одним из перспективных методов фармакологической коррекции многих социально значимых и инфекционных заболеваний является применение лекарственных субстанций — энтеросорбентов, обеспечивающих эффективное связывание и выведение токсических соединений из организма. В качестве наиболее эффективных

препаратов энтеросорбентов рассматриваются вещества группы углеводных биополимеров морского происхождения: пектины, альгинаты, каррагинаны, фукоиданы из водорослей и морских трав и хитозан из ракообразных.

Проведенные в ИБМ ДВО РАН и Владивостокском государственном медицинском университете исследования показали, что вещества группы углеводных биополимеров обладают разнообразными эффектами, такими как гипополипидемический и гипотриглицеридемический, противовоспалительный, противовирусный, антипролиферативный, эффективны в терапии нарушений желудочно-кишечного тракта и почек, вирусных и токсических гепатитов, инфекционных заболеваний, обладают свойствами пробиотиков, эффективно выводят из организма радионуклиды и тяжелые металлы.

Другим направлением этих коллективов является разработка биологически активных субстанций из липидов морских гидробионтов с повышенным содержанием полиеновых жирных кислот для лечения ожогов. Лечебное действие фармацевтических субстанций на основе ПНЖК при патологических процессах в коже, вызванных термическими, химическими, радиационными ожогами, аллергическими и аутоиммунными заболеваниями и т.д., связано с их способностью быстро проникать с поверхности кожи и оказывать противовоспалительный эффект в ее глубоких слоях.

Биоактивные субстанции на основе ПНЖК дают возможность значительно уменьшить интенсивность и длительность болевых ощущений, ускорить заживление ожоговых ран, предупреждают образование гиперτροφических и келоидных рубцов.

Существующие лекарственные формы доставки активных и вспомогательных веществ — таблетки, порошки, капсулы, растворы, мази, гели, суспензии и т.п., имеют известные существенные недостатки и не позволяют в полной мере достигать необходимого лечебно-терапевтического эффекта.

Низкая эффективность противоопухолевой (противораковой) химиотерапии объясняется, прежде всего, отсутствием избирательного действия, высокой токсичностью препаратов, многочисленными побочными эффектами и множественной лекарственной устойчивостью опухолевых клеток к химиопрепаратам. Предпринятые попытки адресно доставлять химиопрепараты в клетки мишени в виде конъюгатов с антителами (в качестве векторных молекул) против поверхностноклеточных опухолевых антигенов не принесли ощутимых практических результатов из-за аутоиммунных реакций и низкой эффективности интернализации препаратов.

Проблема заболевания во многих странах крупного рогатого скота и других животных губчатым энцефалитом подвела к абсолютной невозможности и опасности использования полученных из сырья животного происхождения лекарственных компонентов и вспомогательных веществ, в частности, желатина типа А и В, широко используемого в фармацевтике при капсулировании и таблетировании лекарств, в качестве заменителей плазмы крови, бактериологических питательных средах, а также в косметологии.

В настоящее время в качестве носителей лекарств широко используются липиды растительного и животного сырья. Однако нарастающая в мире проблема токсичности носителей лекарственных форм, в том числе и на основе растительных и теплокровных животных фосфолипидов, подводит к необходимости альтернативного использования липидов морских гидробионтов.

Объективное влияние фармацевтических факторов, в частности, обязательный компонент лекарств — вспомогательных веществ, на выраженность фармакологического эффекта послужило основой разработки системы выбора индифферентных наполнителей лекарственных форм, способных кардинально изменить величину биологической доступности активно действующих веществ, интенсивность и полноту их абсорбции, а также характер их элиминации. Это обстоятельство является существенным в принципах отбора и использования фармацевтической промышленностью уникального сырья морского генеза — липидов, хитина, водорослевых полисахаридов и др.

Наиболее перспективной и эффективной транспортной системой для доставки лекарств является фосфолипидная фракция липидов морских гидробионтов в виде мультиламеллярных и моноламеллярных липосом и эмульсий, содержащих мицеллы диаметром 20–50 нм, которые обладают широким спектром биологически активных функций. В фосфолипидах морских гидробионтов преобладают полиненасыщенные жирные кислоты, среди которых доминируют биологически активные омега-3 эйкозапентаеновая и докозагексаеновая кислоты, составляющие 52–87%. Варьируя температурой, давлением, рН и другими технологическими параметрами, а также составом фосфолипидов, можно целенаправленно изменять фармакодинамические и фармакокинетические свойства фосфолипидных структур лекарственных форм для диагностики и направленной доставки лекарственных препаратов в органы и клетки-мишени пациента.

Водорослевые полисахариды (ламинариевые, фукусовые, красные морские водоросли и травы),

структурно близкие к растительному крахмалу, наиболее перспективны для использования в технологии лекарственных форм в качестве вспомогательных веществ вместо более дорогого и дефицитного растительного крахмала. В отличие от растительных полисахаридов наземного происхождения, водорослевые полисахариды представляются далеко неиндифферентными веществами, отличаясь противовирусным, бактериостатическим, антикоагулянтным, гиполипидемическим и другими видами фармакологической активности. Поэтому фармацевтическое применение морских водорослевых полисахаридов является экономически и технологически целесообразным. Это относится и к другим классам химических соединений морских гидробионтов, сегодня используемых в фармации или находящихся в стадии изучения и разработки.

Наиболее перспективными объектами для получения биологически активных лекарственных субстанций, создания оригинальных эффективных фармацевтических препаратов и фосфолипидных вспомогательных веществ для диагностики и доставки лекарственных средств являются представители многих классов морских гидробионтов, значительные объемы запасов которых находятся в прибрежных морских акваториях Южного Приморья, Сахалина, Магаданской области и Камчатки: трепанг, голотурия, морские звезды, губки, кораллы, морские ежи, водоросли, брюхоногие, кальмары, медузы, каракатицы, ракообразные, акулы, многие виды рыб, двустворчатые моллюски (мидии, гребешки, устрицы, спизула, карбикула, мия, леда, мактра) и многие другие морские организмы.

В Приморском крае успешно действует разработанная научно-производственная программа «Марикультура», обеспечивающая круглогодичное воспроизводство в марихозяйствах трепанга, гребешка, мидии, устрицы, краба, креветки, ламинарии и др.

Из обширного многообразия биологически активных веществ и комплексов, содержащихся в морских гидробионтах, наибольшей перспективностью для создания лекарственных средств нового поколения и полифункциональных биоактивных фармакологических субстанций обладают жирные кислоты омега-3 ряда и водорослевые полисахариды.

На первом этапе из них целесообразно разрабатывать лекарственные средства для лечения социально значимых и инфекционных заболеваний: сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваний, онкологических заболеваний, для лечения сахарного диабета, репродуктивной (мочеполовой) системы, антибактери-

альные, антипаразитарные и противовирусные лечебные препараты.

Одним из главных преимуществ России является низкая стоимость разработки и вывода на рынок новых лекарственных препаратов, составляющая от 1,5 до 2 млн. долларов (для сравнения, в западных странах от 500 до 700 млн. долларов и выше). Продолжительность разработки нового лекарственного средства до его вывода на рынок составляет в России 6–8 лет против 11–12 лет в западных странах.

При осуществлении государством инновационно-технологического прорывного варианта развития экономики России, на основе мощного научного потенциала учреждений РАН, РАМН и НИИ рыбной отрасли, задача создания и производства оригинальных и эффективных фармакологических препаратов из морских гидробионтов, исходя из нерешенных проблем медицины, является сегодня одной из главных и жизненно необходимых для страны и ее надо обязательно решать.

Литература

1. Федотова О. Отечественная фармпромышленность: где искать корни прогресса? // Российские аптеки. — 2007. — № 12. — С. 7–8.
2. Воробьев В.В. Потенциал рыбной промышленности и здоровье россиян // Рыбное хозяйство. — 2007. — № 1. — С. 21–24.
3. Комаров Ф.И., Кукес В.Г., Сметнев А.С. и др. Внутренние болезни. — М.: Медицина, 1990. — 688 с.
4. Змушко Е.И., Белозеров Е.С. Медикаментозные осложнения. — СПб: Питер, 2001. — 448 с.
5. Lazarou J., Pomeranz B.H., Corey P.N. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies // JAMA. — 1988. — Vol. 279 (15). — P. 1200–1205.
6. Белоусов Ю.Б., Гуревич К.Г. Клиническая фармакокинетика. Практика дозирования лекарств. — М.: Литера, 2005. — 288 с.
7. Воробьев В.В. Омега-3 жирные кислоты гидробионтов для функционального и лечебно-профилактического питания // Материалы Международной научно-практической конференции «Повышение эффективности использования водных биологических ресурсов Мирового океана». — М.: ВНИРО. 2005. — С. 247–249.

ПЕРСПЕКТИВЫ ВОЗРОЖДЕНИЯ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРОМЫСЛА И ПЕРЕРАБОТКИ АНТАРКТИЧЕСКОГО КРИЛЯ

В.М. БЫКОВА*, К.В. ШУСТ, С.В. НЕМЦЕВ

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва

Учитывая многолетний опыт и результаты исследований в области изучения сырьевых ресурсов криля, создание технологии и оборудования по его комплексной переработке, Россия и сегодня сохраняет возможность быть мировым лидером в части освоения криля. В этой связи следует напомнить об основополагающих и реализованных в свое время направлениях в области организации промысла и переработки антарктического криля в рамках национальной комплексной программы «Криль» и высказать наше видение решения этой задачи.

Биомасса антарктического криля составляет более половины от общего объема планктона Антарктики. Антарктический криль — типичный представитель антарктического макропланктона, обитающий в холодных водах при температуре от $-0,3^{\circ}\text{C}$ до $+4^{\circ}\text{C}$. Криль распространен в Южном океане циркумполярно вокруг Антарктиды.

Из 85 известных видов эвфаузиид в водах Южного океана встречаются 16 видов, но чаще и в значительном количестве отмечено 5 видов: *Euphausia superba*, *E. triacantha*, *E. fligida*, *E. crystallorophias*, *Thysanoessa macrura*. У всех этих видов в той или иной степени отмечается способность к образованию значительных скоплений криля. Они характеризуются также довольно крупными для этого отряда размерами — от 29 до 62 мм. Так, например, *Thysanoessa macrura* имеет длину 29 мм, *E. crystallorophias* — до 33 мм, *E. triacantha* — до 40 мм. Однако среди всех антарктических эвфаузиид выделяется *E. superba*, особи которой достигают длины 60–62 мм. Именно этот вид получил название «антарктический криль», или просто «криль» (иногда встречается торговое

наименование — «антарктическая креветка»). *E. superba* имеет наибольшую численность и биомассу в водах Антарктики, имеет высокую репродуктивную способность и представляет большой интерес для промышленного вылова.

Традиционно большая часть отечественного крилевого промысла была сосредоточена в Атлантическом секторе Антарктики, в котором и в настоящее время зарегистрированы значительные скопления антарктического криля (рис. 1).

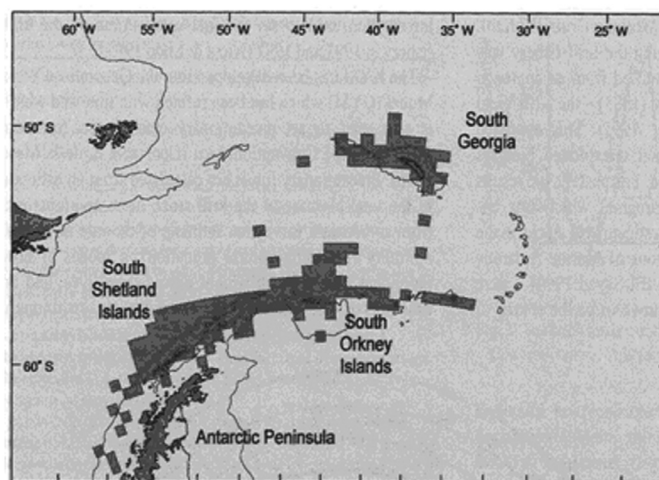


Рис. 1. Районы наиболее плотных скоплений антарктического криля в Атлантическом секторе (по К.-Н. Кок, 2005)

По данным Научного комитета по сохранению морских живых ресурсов Антарктики АНТКОМ, в течение последних 7 лет вылов криля в Атлантическом секторе Антарктики (район 48) держался примерно на одном уровне, составляя от 104,4 т до 127 т в год. Этот очень невысокий уровень вылова криля, тогда как ежегодный лимит вылова в подрайонах Атлантического сектора составляет: 48,1 — 1,008 млн. т.; 48,2 — 1,104 млн. т.; 48,3 — 1,056 млн. т.; 48,4 — 0,832 млн. т.

* Автор для переписки:

© 2008 г. Быкова В.М.

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО), Москва
E-mail: Nemtsev@VNIRO.ru

По итогам промыслового сезона 2006/2007 гг., следует отметить, что в промысле криля в Атлантическом секторе Антарктики участвовали суда только трех стран-участниц АНТКОМ: Японии, Кореи и Норвегии. Общій зарегистрированный вылов криля в 2007 году составил 104,4 тыс т, причем основная часть — 55,7 тыс. т была взята в подрайоне Южных Оркнейских островов. В предыдущий сезон 2005/2006 гг. промысел криля проводился пятью странами (Япония, Украина, Корея, Польша, США), но суммарный вылов составил только 105 тыс.т.

Промысел криля в водах Индоокеанского сектора (район 58) в настоящее время не ведется, хотя возможности для этого там вполне реальны. По данным австралийской экспедиции, в Индоокеанском секторе (подрайон 58.4.2) общая биомасса *E. superba* была оценена в 12,46 млн. т; промысел возможен в море Содружества, где вылавливалось в отдельные годы до 100 тыс. т криля. Учитывая также ресурсы моря Космонавтов и морей Дюрвиля, Моусона, Дейвиса, вылов может составить 200–300 тыс. т в год. Общій вылов криля на Статистическом участке 58.4.2, по рекомендации АНТКОМ, в любой промысловый сезон ограничивается величиной в 450 тыс. т, а в Статистическом участке 58.4.1 — 440 тыс. т.

В Тихоокеанском секторе (район 88) вылов криля наиболее реален в море Сомова (у островов Баллени), где может быть добыто не менее 50 тыс. т в год. Предохранительных лимитов вылова криля в этом секторе Антарктики АНТКОМом не введено, но, по результатам комплексной японской съемки криля в море Росса, общая биомасса антарктического криля составила 2,04 млн. т, а ледовой формы евфазиевого рачка *E. crystallorophias* — 1,26 млн. т.

Согласно поступившим в АНТКОМ уведомлениям, общій вылов криля в сезон 2007/2008 гг. может составить 764 000 т, так как 9 государств представили уведомления о 25 судах. Причем десять судов от 3 стран (Острова Кука, Норвегия и Украина), вероятно, будут использовать «новую» систему непрерывного лова.

На предстоящий сезон 2008/2009 гг. поданы уведомления от 9 стран на 23 судна. Ожидаемый общій вылов в районе 48 составит 897 000 тонн, что намного превышает пороговый уровень в 620 000 тонн. Однако, согласно статистике, реальный вылов в течение последних лет остается на одном уровне при наблюдаемом снижении пропорции между реальным и заявленным выловами.

От России и Норвегии поданы заявки на исследовательский (поисковый) промысел криля соответственно в подрайонах 48.6 и 88.3, причем от России заявлено сразу 5 судов.

Обширность ареала криля в Южном океане, значительная площадь акваторий, на которых распределяются массовые концентрации в Атлантическом, Тихоокеанском и Индоокеанском секторах, а также высокая плотность рачков в скоплениях, двукратный нерест каждой особи в сочетании с высокой плодовитостью и небольшой продолжительностью жизненного цикла обеспечивают высокую репродуктивную способность вида, что является одним из важных условий стабильного поддержания высокой численности антарктического криля.

Отечественными исследованиями определены районы, сроки образования промысловых концентраций криля, изучены основные этапы и продолжительность его жизненного цикла. Выявлены основные особенности распределения криля различных возрастных и размерных групп по акватории морей Южного океана, установлены закономерности суточных миграций криля в местах скоплений в зависимости от характера и интенсивности питания, возраста, времени суток, сезона и др. При этом отмечена довольно высокая степень взаимосвязи исследованных параметров, что обеспечивает возможность определения химического состава криля по данным биологического анализа конкретного улова. В итоге разработан непрямой экспресс-метод определения химического состава криля.

Изменение свойств криля-сырца наблюдалось в ходе промысла во времени, а также в зависимости от района ведения промысла, иногда в течение нескольких дней и даже тралений, влияя при этом на химический состав криля, выход мяса и качество продукции.

На основании обобщения материала по химическому составу и свойствам криля-сырца было предложено подразделять его на три размерные группы. Данные, представленные в таблице 1, свидетельствуют о том, что химический состав криля подвержен значительным колебаниям в зависимости от размера, пола и биологического состояния рачка [1].

Ферментный комплекс гепатопанкреаса антарктического криля обладает высокой протеолитической активностью, а протеолиз является важнейшим процессом, определяющим нестабильность его свойств и сроки хранения криля-сырца.

Азотистые вещества криля, кроме хитина, состоят из белковых (до 80%) и небелковых азотистых веществ, в основном, из полипептидов. Все формы азота, в том числе белковый, небелковый, летучих оснований, азот аминокислот являются объективными показателями степени свежести криля, глубины автолитических процессов и, в итоге, качества продукта.

Изменения химического состава криля-сырца

Объект исследований	Размеры, мм	Содержание, % к сырой массе				
		Воды	Липидов	Белка	Зола	Панциря
Февраль						
Половозрелые						
Самцы	-	80,8	1,6	15,5	2,9	2,0
Самки	-	77,3	5,0	15,6	2,5	1,6
Неполовозрелые	33,0–42,0	75,9	6,3	15,4	2,5	2,0
(самцы	42,5–48,0	75,3	7,4	15,0	2,5	1,9
и самки)	48,5–57,0	74,2	9,7	14,0	2,2	1,7
Март						
Половозрелые						
Самцы	-	78,4	4,2	14,2	2,5	2,1
Самки	-	76,6	7,1	13,6	2,2	1,9
Неполовозрелые	33,0–42,0	75,7	7,1	14,5	2,5	2,0
(самцы	42,5–48,0	74,2	8,7	14,4	2,6	1,9
и самки)	48,5–57,0	74,1	9,4	14,5	2,7	2,0
Апрель						
Созревающие	33,0–42,0	76,9	6,6	14,1	2,5	1,9
(самцы	42,5–48,0	75,6	7,7	14,4	2,7	2,2
и самки)	48,5–57,0	75,5	8,9	14,0	2,3	1,7

Азотистые вещества криля на 80% представлены полноценными белками. По нашим данным, белок криля содержит весь набор аминокислот, сходен с белками домашних животных и куриного яйца, что соответствует эталону белка, предложенному ФАО.

Наряду с сырьевыми, были проведены комплексные технологические исследования этого нового нетрадиционного источника сырья, разработаны научные основы его рационального использования на базе многовариантных подходов, учитывающих специфику химического состава и технологических свойств сырья, его изменчивость под влиянием прижизненных факторов и посмертных автолитических процессов. Обоснованы общие теоретические и практические рекомендации по созданию новых технологий, не имеющих аналогов в отечественной и зарубежной практике, предложены направления его комплексной переработки. Освоение крупномасштабных ресурсов антарктического криля позволяет организовать массовое производство хитина и хитозана в нашей стране. Если учесть, что содержание хитина составляет около 1%, а хитозана – 0,7% от общей массы криля-сырца, то с переработанным на кормовую муку панцирьсодержащим сырьем уже безвозвратно потеряно 19 тыс. тонн хитина или около 13 тыс. тонн

хитозана. Устойчивая сырьевая база криля, биомасса которого составляет свыше 2 млрд. тонн, гарантирует возможность возрастания промысла этого объекта.

Научное обоснование и экспериментальные разработки по проблеме криля, в частности, по вопросам создания, внедрения новых технологий и техники явились базой для его промысла. За период с 1971 по 1991 гг. вылов криля бывшим СССР составил около 4 млн. т, достигая в отдельные годы до 400 тыс. т. В ходе реализации крилевых программ были разработаны технология и техника комплексной переработки криля с получением продукции различного назначения:

- пищевого – паста «Океан», мясо, фарш, изоляты, концентраты, гидролизаты, а на их основе разнообразные кулинарные изделия, широкий ассортимент консервов, структурированные и формованные продукты;
- кормового – кормовая мука, сыромороженный криль, кормовые гидролизаты, кормовые пасты, белково-минеральные добавки, в том числе для аквакультуры;
- технического – хитин, хитозан и их производные, сорбенты, ферментные препараты, пептидные гидролизаты;
- медицинского – каротиноиды, дезоксирибонуклеиновая кислота и др.

За период активного промысла криля к решению проблемы создания и внедрения технологии и техники его переработки, организации лова, кроме ВНИРО, были привлечены АтлантНИРО, Гипрорыбфлот, ТИНО, АзчерНИРО, ПИНО, Дальтехрыбпром и др., а также ряд институтов АН СССР, АМН СССР, других министерств и ведомств.

Освоение намеченного на 1990 г. объема вылова криля в количестве 1,2 млн. т предполагалось осуществить частично переоборудованными судами типа БМРТ и специализированными вновь построенными судами пр. 16080 типа «Антарктида». Кроме комплексной переработки криля непосредственно на добывающих судах типа крилевого траулера пр 16080, предполагалось создание упрощенной схемы глубокой заморозки целого криля с последующей безотходной переработкой на береговых предприятиях.

Распад СССР и связанные с этим экономические трудности не позволили продолжить эффективный промысел криля предприятиям Российской Федерации. Судостроительные мощности, а также порты базирования крилевого флота находятся на территории Украины, и украинские рыбопромышленные предприятия продолжили традиции крилевого промысла в Южной Атлантике. Они расширили ассортимент выпускаемых консервов из мяса криля, но комплексная его переработка с получением гидролизатов, хитина и хитозана оказалась ими не освоена, поскольку производственные мощности и технологии остались на территории Российской Федерации.

Большой научный задел и опыт промышленной переработки антарктического криля, полученные в рамках реализации комплексной целевой программы (КЦП) «Криль», дают возможность российским рыбопромышленным организациям возродить добычу криля в широких масштабах и обеспечить тем самым эффективную экономику, позволяющую России занять приоритетную позицию в освоении ресурсов открытой части Мирового океана, выйти на активное внедрение передовых технологий по комплексной переработке криля.

Учитывая вышеизложенное, хочется отметить, что нам представляется целесообразной необходимость воз-

обновления отечественного промысла криля в Антарктике и продолжения связанных с этим научных и технологических исследований, формирования комплексной целевой программы, подобной существовавшей ранее КЦП «Криль», которая должна включать в себя создание промыслового флота, совершенствования оборудования и комплексной технологии переработки антарктического криля с получением достаточного ассортимента пищевой, кормовой и технической продукции, включая хитин, хитозан и их модификации.

Таким образом, исходя из того, что развитие многих биотехнологических процессов связано с применением высокобелкового сырья, в качестве которого часто используют мясо и рыбу пищевого качества (что, естественно, ограничивает масштабы производства), требуется поиск новых источников за счет морских биоресурсов. Кроме того, развитие производства хитина, хитозана и продукции на их основе также заметно сдерживается недостаточным объемом сырьевых ресурсов хитинсодержащего сырья, панциря промысловых ракообразных.

Нашими исследованиями показано, что промышленный лов и переработка антарктического криля на судах и береговых предприятиях открывает широкие перспективы для развития биотехнологических и пищевых производств, а это, в свою очередь, остро ставит вопрос возобновления отечественного промысла криля в Антарктике.

Литература

1. *Антарктический криль: Справочник* / Под ред. В.М. Быковой. — М.: Изд-во ВНИРО, 2001. — 207 с.
2. *Немцев С.В.* Комплексная технология хитина и хитозана из панциря ракообразных. — М.: Изд-во ВНИРО, 2006. — 134 с.
3. *Быкова В.М., Немцев С.В.* Сырьевые источники и способы получения хитина и хитозана / В кн.: Хитин и хитозан: Получение, свойства и применение / Под ред. К.Г. Скрыбина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. — М.: Наука, 2002. — С. 7–23.

ПРЕДОПРЕДЕЛЯЮТ ЛИ ЦИТОКИНИНЫ В СОСТАВЕ тРНК ТОКСИЧНОСТЬ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ И ФОТОТРОФНЫХ ПУРПУРНЫХ БАКТЕРИЙ?

О.П. СЕРДЮК*, Л.Д. СМОЛЫГИНА, Е.П. ИВАНОВА, Е.Н. МУЗАФАРОВ

*Институт фундаментальных проблем биологии РАН,
Пушино Московской области*

Цитокинины свободные и в составе тРНК

Цитокинины, растительные гормоны, являются изопренилированными в N-6 положении производными аденина. Изопентенилтрансферазы, переносящие пятиуглеродный фрагмент к аденозину, являются ключевым ферментом в завершающей стадии биосинтеза цитокининов [1, 2]. Различают изопентенилтрансферазы (ИРТ) (Е.С. 2.5.1.27), синтезирующие *de novo* свободные цитокинины [3, 4], а также изопентенилтрансферазы (ИРТ-tRNA) (Е.С. 2.5.1.8), модифицирующие аденозин вблизи петли антикодона в 37-м положении у различных видов тРНК [5, 6]. В растениях свободные цитокинины индуцируют деление и дифференциацию клеток и, следовательно, являются центральными регуляторами их развития [7, 8, 9, 10]. Физиологическая функция цитокининов у животных не обнаружена. Однако опыты по воздействию экзогенных цитокининов на клетки крови человека показали, что они индуцируют процесс апоптоза в лимфоцитах [11], а также могут подавлять или стимулировать их митоз [12]. Найдено также, что цитокинины способны дифференцировать клетки лейкемии LН-60 и подавлять их рост [13]. Предварительные клинические испытания позволяют предположить возможное использование цитокининов в качестве препаратов при лечении раковых заболеваний [14].

Цитокинины в составе тРНК найдены у представителей всех царств, кроме архей [15, 16, 17]. Поскольку при трансляции транспортные РНК взаимодействуют с многочисленными молекулами и вовлекаются в клетке в разнообразные биосинтетические процессы, любая

модификация нуклеозидов в их составе вызывает изменения в метаболизме организма [18]. В отличие от других модификаций тРНК, функция изопренилированных нуклеозидов в трансляции исследуется *in vivo* и *in vitro* у эукариот [19, 17, 5] и особенно интенсивно — у прокариот. Штамм *E. coli* K12 является прекрасной модельной системой в фундаментальных исследованиях процесса изопренилирования нуклеозидов в тРНК [20].

На патогенной энтеробактерии *Salmonella* было продемонстрировано, что структура изопентенильного остатка в тРНК цитокининах — гидроксильный или негидроксильный — определяется выращиванием этих бактерий в аэробных или анаэробных условиях, соответственно [21]. Показано также, что такие модификации нуклеозидов как у эукариот, так и прокариот улучшают эффективность тРНК в трансляции и повышают или понижают точность трансляции [22].

Свободные цитокинины микроорганизмов

Если у растений участие фитогормонов во многих жизненно важных процессах на всех стадиях их развития очевидно и механизмы действия цитокининов хорошо изучены [23], то у бактерий их внутриклеточная функция пока не обнаружена.

Наиболее хорошо изучены фитогормоны у симбиотических с растениями бактерий [24, 25], а также фитопатогенных бактерий. Те и другие получают жизненно важные для себя соединения, изменяя при участии гормонов метаболизм растений, морфологию органов [26] или даже вызывая появление новых органов (корневые клубеньки) [24, 25]. Можно предположить, что фитогормоны могут выступать также в роли сигнальных молекул при взаимодействии бактерий как нефототрофных, так и фототрофных в ассоциации, консорциуме или матах.

* Автор для переписки:

© 2008 г. Сердюк Ольга Петровна
ИФПБ РАН, ст.н.с., к.б.н.,
142290 Пушино Московской обл.
E-mail: olserdruk@mail.ru

Наименее изученными по фитогормональному составу оказались фототрофные пурпурные бактерии (ФПБ). ФПБ представляют собой филогенетически разнородную группу бактерий, которые по анализу нуклеотидных последовательностей 16S РНК относятся к альфа-, бета- гамма- филогенетическим группам [27]. Большинство ФПБ относится к альфа-протеобактериям, но даже внутри альфа-группы фототрофные пурпурные бактерии делятся на три подгруппы альфа-1, альфа-2 и альфа-3, в которые входят нефототрофные бактерии (агробактерии, ризобияльные, азотфиксирующие) и которым по этому признаку они являются более близкими родственниками, чем между собой. Однако по составу фитогормонов фототрофные пурпурные бактерии существенно отличаются от родственных нефототрофных бактерий. Цитокинин (зеатинрибозид) был выявлен в биомассе альфа-1 фототрофной бактерии *Rhodospirillum rubrum* [28], а у представителей фототрофных бактерий других филогенетических групп цитокинины и другие фитогормоны не были обнаружены [29, 30]. На основании этих данных был проведен компьютерный анализ изопентенилтрансфераз у грам-отрицательных бактерий — фототрофных пурпурных, агробактерий и энтеробактерий с полностью расшифрованными геномами.

Изопентенилтрансферазы и токсичный липид А грам-отрицательных бактерий

Поиск гомологичных последовательностей изопентенилтрансфераз проводили в программе BLAST и PSI-BLAST на сайте <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> с использованием баз данных аминокислотных последовательностей Swiss-Prot/UniProt, в системе для составления выборки белков с одинаковыми функциями (SRS). О сходстве ферментов судили по процентному содержанию подобных аминокислот с учетом веса сопоставленных символов (S_{bit}) — традиционной скалярной оценочной функцией с аффинными штрафами за делеции.

Сравнение агробактериальных изопентенилтрансфераз, отвечающих за биосинтез свободных цитокининов (ИРТ), с геномами ФПБ на уровне аминокислотных последовательностей продемонстрировало, что у фототрофных бактерий таких генов нет, однако имеются белки, аннотированные как тРНК-изопентенилтрансферазы (табл. 1). Наибольшее сходство обнаружилось между ферментами патогенных *Salmonella*, *E. coli* К-12 и ФПБ *Rv. gelatinosus* (табл. 1).

Таблица 1

Результаты компьютерного сравнения аминокислотных последовательностей бактериальных изопентенилтрансфераз

Название ФПБ	<i>Rps. palustris</i>	<i>Rvi. gelatinos</i>	<i>Rba. sphaeroides</i>	<i>Rsp. rubum</i>
ИРТ Agrobacterium	*42/39	34/373	36/29	36/34
ИРТ- tRNA Agrobacterium	47/258	39/176	43/200	45/233
ИРТ-tRNA Salmonella	41/193	52/ 290	36/135	37/162
ИРТ-tRNA E. coli K-12	41/189	54/289	38 /141	38/160

* Сходство ($\%/S_{bit}$)

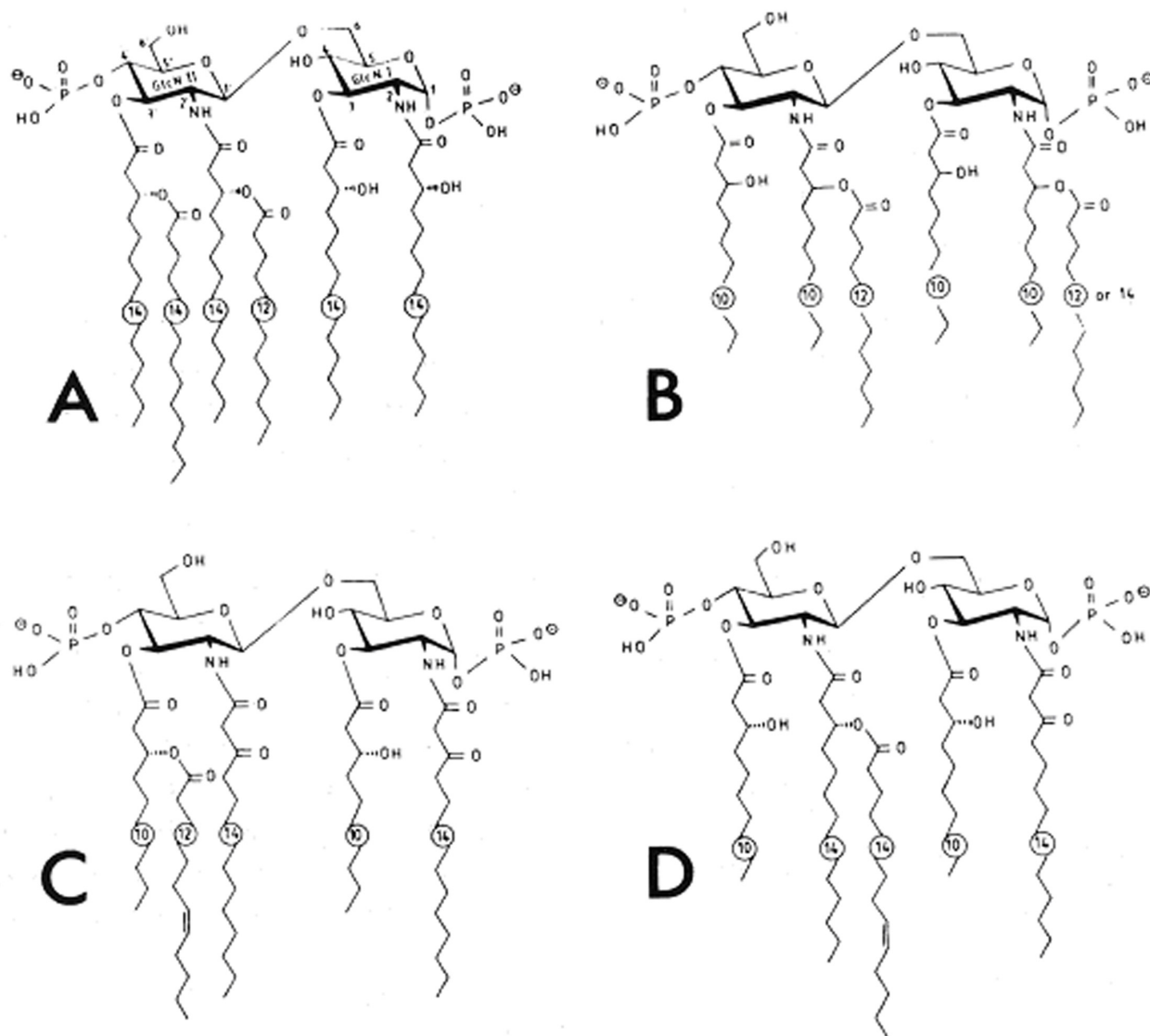


Рис. 1. Структура токсичного липида А из: А) *Escherichia coli* и В) *Rubrivivax gelatinosus* и нетоксичного липида А из: С) *Rhodobacter capsulatus* и Д) *Rhodobacter sphaeroides* [32]

Из источников литературы известно, что основными поверхностными молекулами грам-отрицательных бактерий являются липополисахариды (ЛПС), которые состоят из доменов: гидрофобного липида А (или эндотоксина), «корового» олигосахарида и периферического полисахарида (или О-антигена) [31]. Исследования ЛПС у грам-отрицательных бактерий различных семейств [32] показали идентичность структуры токсичного липида А у фототрофной бактерии *Rubrivivax gelatinosus* и *E. coli* и наличие нетоксичного липида А у ФПБ *Rhodobacter capsulatus* и *Rhodobacter sphaeroides* (рис. 1).

Липид А является биологически активным компонентом ЛПС, поскольку именно с ним связано развитие септического шока в животном организме

(Trent M.S., 2004) [33]. ФПБ *Rv. gelatinosus* из-за наличия в ЛПС наружной мембраны клеточной стенки этой бактерии токсичного липида А относят к условно патогенным бактериям. *Rv. gelatinosus* имеет сходство с патогенными энтеробактериями не только по этому признаку, но и по нуклеотидным последовательностям 16S рРНК. Последнее позволяет свести все эти бактерии в одну родственную филогенетическую группу бета-протеобактерий, что отличает их от большинства ФПБ, принадлежащих к альфа-протеобактериям, и это дает возможность предположить возможное существование еще каких-либо сходных признаков у бета-протеобактерий. Если учесть сходство структуры изопентенилтрансфераз, модифицирующих аденин в составе тРНК и структуры липида А, то такими общими

признаками у энтеробактерий и фототрофной бактерии могут быть не только регуляция аэробного и анаэробного метаболизма (Buck M., Ames B.N., 1984) [21], но и, например, регуляция биологической активности липида А.

Все вышеизложенное позволяет нам предположить, что цитокинины в составе тРНК могут определять токсичность энтеробактерий и фототрофных пурпурных бактерий. Продолжение исследований в этом направлении, а именно: детальное исследование структуры тРНК изопентенилтрансфераз *in silico*, экспериментальное сравнительное исследование свойств этих белков, регуляции их биосинтеза во взаимосвязи с токсичностью бактерий — может привести не только к новым фундаментальным знаниям, но и иметь практическое применение в медицине.

Литература

1. Takei K., Sakakibara H., Sugiyama T. Identification of genes encoding adenylate isopentenyltransferase, a cytokinin biosynthesis enzyme, in *Arabidopsis thaliana* // *J. Biol. Chem.* — 2001. — Vol. 276. — P. 26405–26410.
2. Kakimoto T. Identification of plant cytokinins biosynthetic enzymes as dimethylallyldiphosphate : ATP/ADP isopentenyltransferases // *Plant Cell Physiol.* — 2001. — Vol. 42. — P. 677–685.
3. Kakimoto T. Biosynthesis of cytokinins // *J. Plant Res.* — 2003. — Vol. 116. — P. 233–239.
4. Akiyoshi D.E., Klee H., Amasino R.M., Nester E.W., Gordon M.P. T-DNA of *Agrobacterium tumefaciens* encodes an enzyme of cytokinin biosynthesis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1984. — Vol. 81. — P. 5994–5998.
5. Miyawaki K., Tarkowski P., Matsumoto-Kitano M. et al. Roles of *Arabidopsis* ATP/ADP isopentenyltransferases and tRNA isopentenyltransferases in cytokinin biosynthesis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2006. — Vol. 103. — P. 16598–16603.
6. Cray J., Gelvin S.B., Meilan R., Morris R.O. Transfer RNA is the source of extracellular isopentenyladenine in a Ti-plasmidless strain of *Agrobacterium tumefaciens* // *Plant Physiol.* — 1996. — Vol. 110. — P. 431–438.
7. Mok D.W., Mok M.C. Cytokinin metabolism and action // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* — 2001. — Vol. 52. — P. 89–118.
8. Кулаева О.Н., Кузнецов В.В. Новейшие достижения и перспективы в области изучения цитокининов // *Физиология растений.* — 2002. — Т. 49. — С. 1–15.
9. Dello I.R., Linhares F.S., Sabatini S. Emerging role of cytokinin as a regulator of cellular differentiation // *Curr. Opin. Plant Biol.* — 2008. — Vol. 11. — P. 23–27.
10. Verdonk J.C., Shibuya K., Loucas H.M., Colquhoun T.A. Flower-specific expression of the *Agrobacterium tumefaciens* isopentenyltransferase gene results in radial expansion of floral organs in *Petunia hybrida* // *Plant Biotechnol. J.* — 2008 [Epub ahead of print].
11. Meisel H., Gunther S., Martin D., Shlimme E. Apoptosis induced by modified ribonucleosides in human cell culture systems // *FEBS Letters.* — 1998. — Vol. 433. — P. 265–268.
12. Gallo R., Whang-Peng J., Perry S. Isopentenyladenosine stimulates and inhibits mitosis of human lymphocytes treated by phytohemagglutinin // *Science.* — 1969. — Vol. 165. — P. 400–402.
13. Ishii Y, Hori Y, Sakai S, Honma Y. Cytokinin-induced differentiation of human myeloid leukemia HL-60 cells is associated with the formation of nucleotides, but not with incorporation into DNA or RNA // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2003. — Vol. 1643. — P. 1–24.
14. Bifulco M., Malfitano A.M., Proto M.C. et al. Biological and pharmacological roles of N6-isopentenyladenosine: an emerging anticancer drug // *Anticancer Agent Med. Chem.* — 2008. — Vol. 8. — P. 200–204.
15. Golovko A., Hjalm G, Sitbon F., Nicander B. Cloning of a human tRNA isopentenyl transferase // *Gene.* — 2000. — Vol. 258. — P. 85–93.
16. Gray J., Wang J., Gelvin S.B. Mutation of the *miaA* gene of *Agrobacterium tumefaciens* results in reduced *vir* gene expression // *J. Bacteriol.* — 1992. — Vol. 174. — P. 1086–1098.
17. Warner G.J., Rusconi C.P., White I.E., Faust J.R. Identification and sequencing of two isopentenyladenosine-modified transfer RNAs from Chinese hamster ovary cells // *Nucleic Acids Res.* — 1998. — Vol. 26. — P. 5533–5535.
18. Bjork G.R. The role of modified nucleosides in tRNA interactions / In: *Transfer tRNA in protein biosynthesis.* Eds. Hatfield D.L., Lee B.J., Pirtle R.M. — CRC press, Boca Rato, Fl., 1992. — Ch. 2. — P. 23–87.
19. Yevdakova NA, von Schwartzberg K. Characterisation of a prokaryote-type tRNA-isopentenyltransferase gene from the moss *Physcomitrella patens* // *Planta.* — 2007. — Vol. 226. — P. 683–695.
20. Leung H-Ch.E., Chen Y., Winkler M.E. Regulation of substrate recognition by the *MiaA* tRNA prenyltransferase modification enzyme of *Escherichia coli* K-12 // *J. Biol. Chem.* — 1997. — Vol. 272. — P. 13073–13083.

21. *Buck M., Ames B.N.* A modified nucleotide in tRNA as a possible regulator of aerobiosis: synthesis of cis-2-methylthioribozylzeatin in tRNA of *Salmonella* // *Cell*. – 1984. – Vol. 36. – P. 523–531.
22. *Persson B.C., Esberg B., Olafsson O., Bjorc G.R.* Synthesis and function of isopentenyl adenosine derivatives in tRNA // *Biochimie*. – 1994. – Vol. 76. – P. 1152–1160.
23. *D'Agostino I.B., Kieber J.J.* Molecular mechanisms of cytokinin action // *Current Opinion in Plant Biol.* – 1999. – Vol. 2. – P. 359–364.
24. *Spaink H.P.* The molecular basis of the host specificity of the *Rhizobium* bacteria // *Antonie Van Leeuwenhoek*. – 1994. – Vol. 65. – P. 81–98.
25. *Frugier F., Kosuta S., Murray J.D., Crespi M., Szczyglowski K.* Cytokinin: secret agent of symbiosis // *Trends Plant Sci.* – 2008. – Vol. 13. – P. 115–120.
26. *Depuydt S., Dolezal K., Van Lijsebettens M., Moritz T., Holsters M., Vereecke D.* Modulation of the hormone setting by *Rhodococcus fascians* results in ectopic KNOX activation in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2008. – Vol. 146. – P. 1267–1281.
27. *Woese C.R.* // *Bacterial Evolution*. – 1987. – Vol. 51. – P. 221–271.
28. *Serdyuk O., Smolygina L., Kobsar E.F., Gogotov I.N.* // *FEMS Microbiol. Lett.* – 1993. – Vol. 109. – P. 113–116.
29. *Сердюк О.П., Иванова Е.П., Смольгина Л.Д., Ада-нин В.М.* Фототрофная пурпурная серная бактерия *Chromatium minutissimum* не синтезирует цитокинины в оптимальных условиях выращивания // *ДАН*. – 2003. – Т. 392. – С. 1–3.
30. *Сердюк О.П., Иванова Е.П., Смольгина Л.Д.* Экспрессия гипоксантина и цитокининподобных соединений под действием ацетосирингона и дексаметазона у фототрофных пурпурных бактерий // *ДАН*. – 2006. – Т. 410. – С. 1–3.
31. *Raetz C.R., Whitfield C.* Lipopolysaccharide endotoxins // *Annu. Rev. Biochem.* – 2002. – Vol. 71. – P. 635–700.
32. *Weckesser J., Mayer H.* Different lipid A types in lipopolysaccharides of phototrophic and related nonphototrophic bacteria // *FEMS Microbiol. Rev.* – 1988. – Vol. 54. – P. 143–154.
33. *Trent M.S.* Biosynthesis, transport, and modification of lipid A // *Biochem. Cell Biol.* – 2004. – Vol. 82. – P. 71–86.

АНАЛИЗ СОВРЕМЕННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ПИЩЕВОЙ БИОИНДУСТРИИ

Г.И. КАСЬЯНОВ*

ГОУ ВПО «Кубанский государственный технологический университет», Краснодар

Метод CO₂-обработки: теоретическое обоснование и возможности

Исследователями Кубанского государственного технологического университета (КубГТУ) проводятся систематические исследования по использованию жидкого, твердого и газообразного диоксида углерода для интенсификации технологических процессов [1, 2]. Для каждой технологической операции созданы необходимые теоретические предпосылки и стенды для экспериментальной проверки эффективности методов CO₂-обработки.

Одним из эффективных методов является обработка сырья в среде химически инертного газа — диоксида углерода. Применение CO₂ перспективно не только из-за простоты его получения, но и потому, что использование этого газа в различных агрегатных состояниях (газ, жидкость, твердое вещество) позволяет решать различные технологические задачи.

Для извлечения ценных компонентов из пряно-ароматического сырья наиболее целесообразно применение сжиженных и сжатых газов. Из сжиженных газов, широко используемых в практике (аммиак, бутан, жидкий диоксид углерода, пропан, хладоны), и смеси сжиженных газов наибольшее распространение в пищевой промышленности как растворитель получил жидкий диоксид углерода.

В виде жидкости диоксид углерода может быть при давлении от $73,8 \cdot 10^2$ (критическое давление) до $5,18 \cdot 10^2$ кПа (тройная точка) и соответствующих температурах от +31,05 до -56,6 °С.

При использовании этого растворителя достигается более полное извлечение эфирных масел и других

ароматических и вкусовых веществ, устраняется большинство недостатков, присущих экстракции органическими растворителями и паровой перегонкой.

Недостатком этого растворителя является сравнительно высокая упругость насыщенных паров, что требует применения специальной аппаратуры. Относительная сложность аппаратного оформления процесса экстракции сжиженными газами до недавнего времени сдерживала ее широкое промышленное использование. Однако современные успехи металлургии, машиностроения и химии позволили осуществить этот процесс в промышленных условиях.

Газожидкостная гидратация растительного жирного масла. Разработан и запатентован способ обработки растительного масла диоксидом углерода в присутствии небольшого количества влаги, приводящий к осветлению масла за счет выпадения фосфолипидов [3]. В настоящее время разрабатываются и совершенствуются технология и производство сухих порошкообразных БАД на основе фосфолипидов, которые используются в виде обогатителей функциональных продуктов питания [4]. Краснодарская фирма «Ювикс-Фарм» выпускает по технологии КубГТУ высокоочищенный подсолнечный лецитин для обогащения состава и функционально-технологических свойств вареных мясных и рыбных колбас.

Экстракция ценных компонентов из растительного сырья до- и сверхкритическим диоксидом углерода. Использование CO₂ в качестве экстрагента позволяет отказаться от органических растворителей, что весьма целесообразно с экологической и экономической точки зрения. Способ докритической CO₂-экстракции позволяет сократить продолжительность процесса и увеличить эффективность обработки. Трудными многими исследователями создан банк данных о химическом составе и свойствах CO₂-экстрактов.

В КубГТУ и Краснодарском НИИ хранения и переработки сельскохозяйственной продукции (КНИИХП) разработан и апробирован в промышленных масштабах способ получения CO₂-экстрактов из пряно-

* Автор для переписки:

© 2008 г. Касьянов Г.И.

ГОУ ВПО «Кубанский государственный технологический университет», Краснодар

E.mail: Kasyanov@kubstu.ru

ароматического и лекарственного растительного сырья, которые применяются для улучшения вкуса и аромата рыбных консервов, пресервов, маринадов, рыбоовощных колбасок.

В цехе экстракции ООО «Компания Караван» (г. Краснодар) по данной технологии освоено производство более 100 видов индивидуальных CO_2 -экстрактов и их смесей. Среди них CO_2 -экстракты амаранта, аниса, бадьяна, базилика, кориандра, облепихи, лимонника, коричника, перца кубеба, перечно-чесночной смеси, горчично-перечной смеси, аналоги перца черного и перца душистого из смесей отечественных растений и др.

Подготовлены и переданы промышленности рекомендации по применению CO_2 -экстрактов в рыбной промышленности. Такие экстракты являются одним из классов натуральных пищевых добавок.

Среди новейших методов заслуживает внимания способ CO_2 -обработки коллагенсодержащего вторичного рыбного сырья, способ получения зостерина из зостеры газожидкостным способом, способ получения хитозана из хитина панциря ракообразных, метод последовательной обработки аммиаком (щелочная обработка) и диоксидом углерода (кислотная обработка), способ «холодной» стерилизации сырья и материалов методом газожидкостного «взрыва».

Большинство экстрактов из пряно-ароматического растительного сырья представляет собой маслянистую жидкость желтого, зеленого, коричневого цвета с более темными или светлыми оттенками. Вкус сладковатый (экстракты фенхеля, аниса, аира болотного, можжевельной ягоды), пряный (экстракты кориандра, тмина, дягиля), горький (экстракты зубровки, лаврового листа), жгучий. Экстракты, полученные из корневищ аира, дягиля, лапчатки, обладают большей плотностью, чем экстракты из плодов фенхеля, кориандра, тмина, аниса, перца красного жгучего. Экстракты из корней, стеблей и листьев отличаются высокими значениями кислотных чисел (например, аир болотный, дягель лекарственный, зубровка душистая, лапчатка прямостоячая, лавровый лист).

В состав CO_2 -экстрактов входят углеродные цепи гераниола, линалоола, нералидола и фарнезола, которые являются ключевыми промежуточными продуктами на пути биосинтеза таких биологически активных веществ, как стероидные гормоны, ферменты, антиокислители, витамины D, E, K, желчные кислоты.

Заслуживает внимания азулен как компонент CO_2 -экстрактов из мяты, эвкалипта, ромашки и др. Это — вещества синего, фиолетового, реже зеленого цвета.

В экстрактах они находятся в виде проазуленов или азуленогенов; обладают противоаллергическим, антифлогическим, бактериостатическим, противовоспалительным действием, способны повышать лейкоцитоз, замедляют свертывание крови. Азуленовые соединения участвуют в фотохимических реакциях. Кроме того, они обладают жаропонижающей, антиспастической, противоопухолевой активностью.

Отдельные компоненты CO_2 -экстрактов (энолы) входят в состав биокаталитических систем, осуществляя окислительно-восстановительные реакции.

Такие соединения, как тимол, эвгенол и анетол и другие, имеют сходство структур с известными активаторами биоэнергии.

Изменение параметров технологического процесса позволяет получать экстракты с различным содержанием экстрагируемых веществ [5].

Для таких консервов, как плодовые, овощные, мясные, рыбные маринады, консервированные огурцы, томаты, патиссоны и кабачки, CO_2 -экстракты вводят с заливочной жидкостью в виде эмульсии.

Гомогенизация растительного сырья. Одним из энергоемких процессов производства является гомогенизация растительного и животного сырья. Использование газообразного диоксида углерода для насыщения продукта и последующего резкого сброса давления в аппарате позволяет не только существенно сократить время и энергоемкость обработки, но и добиться высокой дисперсности и гомогенности получаемого продукта без ухудшения его биохимических показателей [6].

Холодная стерилизация. Применение CO_2 в качестве технологического агента позволяет не только гомогенизировать продукт, но и резко, в 50–100 раз снизить бактериальную обсемененность обрабатываемого сырья, без использования химических консервантов и с максимальным сохранением ценных компонентов исходных продуктов [7].

Удаление солей винной кислоты из виноградного сока. Использование CO_2 позволяет снизить концентрацию тартратов в соке в 3–4 раза за 30 мин. Причем, газожидкостную обработку можно проводить непосредственно на производстве, в крупных резервуарах [8, 9].

Анализ достоинств CO_2 -обработки

CO_2 может эффективно использоваться в других процессах: охлаждении, замораживании, транспортировке сырья и др.

Представленные разработки являются залогом успеха в создании передовых технологий и свидетельствуют о неограниченном вкладе, который может быть внесен изобретателями, при объединении научной мысли и производственного опыта. В частности, это создание технологий переработки сырья растительного и животного происхождения нетрадиционными способами, путем использования инертного газа диоксида углерода.

Предшествующие оригинальным технологиям научно-технические разработки выполнялись в рамках ряда государственных и отраслевых программ.

Создание первого экспериментального оборудования для обработки сырья диоксидом углерода осуществлено при тесном сотрудничестве ученых и специалистов ряда научно-производственных объединений — НПО «Молния», НПО «Горизонт», КБ им. Микояна, НПО «Мир-Продмаш».

Научная новизна разработки заключается в доказанной возможности управления процессами экстрагирования ценных пищевых компонентов из растительного и животного сырья с сохранением их нативных свойств, в возможности интенсификации процессов за счет эффективного разрушения клеток.

Убедительно доказана закономерность повышения выхода ценных органических веществ из предварительно подготовленного растительного сырья: сначала измельченного в крупку диаметром 2–3 мм, а затем пролепесткованного до толщины лепестка 0,2 мм.

Обоснованы пути интенсификации CO_2 -экстракции при докритическом давлении и температуре и при их сверхкритических значениях (в зависимости от задачи).

Разработаны теоретические основы по созданию нового технологического оборудования. Это струйные гидродинамические устройства контактного охлаждения жидких пищевых продуктов при их течении с потоком низкотемпературного диоксида углерода.

Выведены зависимости, обеспечивающие фракционную кристаллизацию веществ из раствора.

Приводится новая информация о факторах, влияющих на качество пищевых продуктов при CO_2 -обработке.

Обобщив результаты исследований предшествующего периода были определены направления совершенствования и создания новых технологий на основе уникальных свойств диоксида углерода в жидком, твердом и газообразном состояниях.

Апробированы разные области CO_2 -обработки: замедление прорастания клубней картофеля за счет

ингибирования процессов метаболизма; снижение температуры тепловой обработки соков и пищевых сред за счет изменения рН среды, что позволило добиться максимального сохранения биологически активных веществ в конечном продукте. Показана возможность исключения из схемы технологической цепочки дорогостоящего насосного и деаэрирующего оборудования за счет использования энергии сжатой газообразной CO_2 (один из путей снижения энергозатрат в технологическом цикле). Продемонстрирована возможность охлаждения плодоовощной продукции с помощью «сухого» снега непосредственно в местах ее сбора.

Изучены пути сокращения цикла технологической обработки сырья на соки путем совмещения в одном аппарате: смешивание ингредиентов, гомогенизацию, концентрирование и пастеризацию.

Разработаны способы измельчения частиц в пределах 10–15 мкм при резком снижении микробной обсемененности; интенсификации сушки плодоовощной пульпы, сохраняющей и природную окраску; криоконсервирования путем прямого контакта с хладагентом.

Обнаружено, что обогащение плодоовощной продукции биологически ценными веществами (за счет CO_2 -обработки) позволяет получать консервы лечебно-профилактического профиля. Показаны пути и способы использования вторичного сырья (выжимки, семена, цедра и др.), пряно-ароматических и лекарственных растений в качестве источников ценных компонентов.

Разработана единая схема использования жидкого, твердого и газообразного диоксида углерода для интенсификации технологических процессов.

Приведена классификация методов CO_2 -обработки и их контроля, выведены технологические параметры для конкретных операций.

Изучен механизм селективной экстракции и предложена схема разделения CO_2 -экстрактов на отдельные классы органических соединений.

Для контроля технологических операций и продуктов CO_2 -обработки использованы современные методы анализа: газожидкостная, высокоэффективная и распределительная хроматографии, спектрофотометрия в УФ и ИК-областях, масс-спектрометрия. Это позволяет судить о высоком уровне контроля, оценки технологических операций, качества и свойств получаемого продукта.

В основе конструирования новой аппаратуры лежит теоретический и экспериментальный материал по докритической и сверхкритической экстракции из

исходного и промежуточного сырья плодоовощной и медицинской продукции.

Разработаны схемы интенсификации процессов CO_2 -обработки, дана сравнительная характеристика различных способов экстракции по времени и выходу экстрактивных веществ.

Практическая реализация теоретических исследований в области струйных газодинамических устройств (СГДУ) осуществлялась путем создания конструкций, систем и способов их использования для охлаждения тушек птицы, колбас, плодовых и овощных соков.

Будущее любой технологии переработки растительной продукции определяется степенью сохранения биологически активных веществ, обуславливающих пищевую ценность и диетические качества соответствующего продукта.

Практические приемы традиционной технологии, без которых пока не обходится перерабатывающая промышленность, не отвечает этим требованиям, так как в технологический процесс входят использование высоких температур, а также длительный контакт с кислородом воздуха в течение нескольких часов.

Кроме того, традиционная технология исключает возможность использования сырья, охлажденного уже в местах производства и сохранения его в таком состоянии до переработки. При транспортировке ягод, плодов, лекарственных растений снижается качество исходного сырья. Поэтому для промышленности важен комплексный подход к решению проблем транспортировки, переработки сырья в качестве конечного продукта.

Представленная блок-схема плодоовощных консервных продуктов и переработки лекарственного сырья с использованием диоксида углерода в различных фазовых состояниях сводит к минимуму потери пищевых качеств животной и растительной продукции.

Таким образом, на основании многолетних комплексных исследований разработана технологическая концепция применения CO_2 в различных фазовых состояниях.

Реализованы новые подходы в создании комплекса процессов, оборудования и промышленных линий, позволяющих получить готовый продукт, сбалансированный по составу и количественному содержанию биологически активных веществ.

Предложена технология применения сухого снега для охлаждения ягодной продукции непосредственно в местах сбора для кратковременного хранения и транспортировки.

Разработана методика и аппаратура для извлечения биологически активных веществ из растительного сырья диоксидом углерода.

Определены экстракционные свойства диоксида углерода в докритическом и сверхкритическом состояниях.

Доказана и осуществлена на практике возможность извлечения и фракционирования ценных компонентов из растительного сырья путем программного изменения давления и температуры экстрагента. Это можно оценивать как приемы дальнейшего расширения возможностей технологии переработки плодоовощного, лекарственного и пряно-ароматического сырья, повышение коэффициента выхода продукции.

Выявлены физические закономерности, позволяющие менять структуру растительного сырья методом газожидкостного взрыва, что дает возможность получить гомогенный продукт переработки за короткое время, при этом на 2 порядка снижается величина микробной обсемененности.

Это также находит подтверждение в новой информации о влиянии CO_2 -обработки на комплекс показателей качества гомогенизированных продуктов, сока и экстрактов из растительного сырья.

Разработан энергосберегающий способ подготовки к пеносушке фруктовых пюре без ввода дополнительных ингредиентов (ПАВ).

Показано, что CO_2 в жидкой и твердой фазе интенсифицирует процесс удаления винного камня — детартрации. Это позволяет повысить технологические и диетические свойства виноградного сока. Для инактивации микроорганизмов и снижения их числа на плодах и таре предложено использование воды, сатурированной диоксидом углерода.

В качестве нового направления в холодильном технологическом оборудовании оцениваются струйные газодинамические устройства для непрерывного контактного охлаждения жидких пищевых продуктов в струйном течении с низкотемпературным газом или двухфазным потоком.

Это обеспечивает формирование жидкого, снегообразного или кристаллического фазового состояния продукта или его отдельных фракций. В итоге раскрывается возможность более широкого использования перерабатываемого продукта и получения новых его видов. СГДУ продемонстрировало конкурентоспособность с другими типами охлаждающих устройств, например, со скороморозильными аппаратами, в силу использования экологически чистой техники, обеспечивающей быстрое

замораживание, сохранение и высокую гомогенность продукта в течение длительного времени.

Метод низкочастотной электромагнитной обработки

Наиболее перспективным представляется способ низкочастотной электромагнитной обработки (НЧ ЭМО) сырья, материалов, оборудования, помещений, готовой продукции.

Способ основан на ранее известных свойствах электромагнитных полей в диапазоне от 1 до 100 Гц, генерируемых с несущей частотой 25,2 МГц в диапазоне модулирующих частот от 20 Гц до 10 кГц на специально сконструированном генераторе мощностью 30 мВт ($30 \cdot 10^{-3}$ Вт).

Метод НЧ ЭМО позволяет осуществлять «холодную» стерилизацию сырья, полуфабрикатов и готовой продукции, организовать эффективную сушку, интенсифицировать процесс экстрагирования ценных компонентов из сырья, организовать эффективную низкотемпературную сушку любых материалов.

Несмотря на ряд неоспоримых достоинств докритической CO_2 -экстракции возникает настоятельная необходимость интенсифицировать процесс извлечения ценных компонентов из растительного сырья за счет наложения электромагнитных полей.

Ряд исследователей установил возможность увеличения выхода экстрактивных веществ с помощью электромагнитных полей сверхвысокой частоты, однако происходящее при этом повышение температуры ограничивает возможности применения этого метода.

Специалисты КНИИХП и Кубанского государственного технического университета разработали способ интенсификации процесса CO_2 -экстракции с помощью электромагнитных полей низкой частоты.

Предварительно были выполнены исследования по оценке безопасности воздействия таких полей в диапазоне от 1 до 100 Гц.

Была установлена возможность эффективно влиять на процесс извлечения БАВ из сырья при обработке ЭМП НЧ в диапазоне модулирующих частот 20–110 Гц с несущей частотой 25,2 МГц.

Из теоретических расчетов и экспериментальных данных о воздействии ЭМП НЧ на биологические объекты установлено, что при обоснованном выборе диапазона технологических параметров, соотношенных с объектами приложения воздействия, его вредное влияние отсутствует или является минимальным. Всему этому в

полной мере соответствует многофункциональный мало-мощный генератор ЭМП НЧ, использованный авторами в работе, и технологические процессы, осуществляемые с его помощью.

На рисунке 1 представлена схема промышленной установки периодического действия для экстракции растительного сырья жидким диоксидом углерода с использованием в качестве интенсифицирующего фактора ЭМП НЧ.

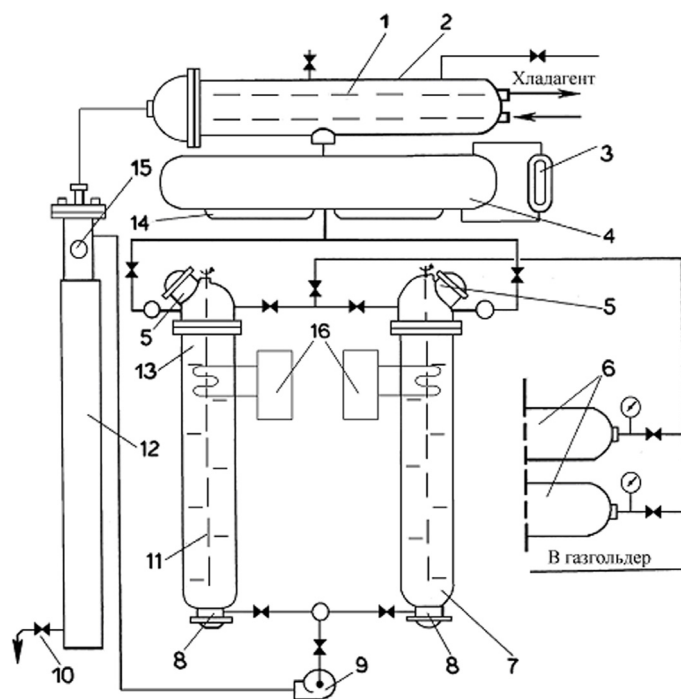


Рис.1. Схема модернизированной установки периодического действия для экстракции растительного сырья жидким диоксидом углерода с наложением ЭМП НЧ:

1 — охлаждающий змеевик; 2 — конденсатор; 3 — смотровое окно; 4 — сборная емкость; 5 — загрузочные люки; 6 — емкости для паров CO_2 ; 7, 13 — экстракторы; 8 — выгрузочный люк; 9 — насос высокого давления; 10 — вентиль отбора экстракта; 11 — мешалка; 12 — пленочный дистиллятор; 14 — подогревающая рубашка; 15 — дистиллятор; 16 — генератор ЭМП НЧ

Приведенная на рисунке 1 схема позволяет осуществлять процесс извлечения ценных компонентов из плодов можжевельника, рябины красной, рябины черноплодной и семян расторопши под воздействием ЭМП НЧ в диапазоне от 30 до 60 Гц.

Впервые в экстракционной технологии для интенсификации извлечения жидким диоксидом углерода ценных компонентов из растительного сырья было при-

менено электромагнитное поле низких частот в диапазоне от 1 до 100 Гц.

Установлено, что при частоте 59,0 Гц достигается наибольший выход CO_2 -экстракта из плодов можжевельника, при 40,1 Гц — из плодов рябины красной, при 21,2 Гц — из плодов рябины черноплодной, при 33,5 Гц — из семян расторопши пятнистой.

Теоретически и экспериментально определена оптимальная продолжительность воздействия электромагнитного поля низких частот на исследуемое сырье в течение 25–35 мин., позволяющая увеличить коэффициент диффузии биологически активных веществ из растительной клетки, имеющей капиллярно-пористую структуру.

Определены оптимальные параметры CO_2 -экстрагирования веществ из растительного сырья при воздействии на сырье электромагнитного поля низких частот в диапазоне от 20 до 60 Гц: для плодов можжевельника, рябины красной и черноплодной при 18 °С, 5,4 МПа в течение 2,9 ч, для семян расторопши при 22 °С, давлении 6 МПа в течение 3,1 ч — позволяющие уменьшить продолжительность извлечения экстрактивных веществ из сырья на 20–40%.

Усовершенствована технология получения CO_2 -экстрактов из растительного сырья путём дополнительного воздействия на растительное сырье электромагнитным полем низких частот, что позволило сократить продолжительность экстракции в 1,2–1,4 раза.

Проведена сравнительная оценка физико-химических свойств CO_2 -экстрактов, полученных под воздействием электромагнитного поля низких частот (1–100 Гц) и по традиционной технологии, обнаруживающая улучшение качественного состава экстрактов полученных по усовершенствованной технологии за счет более полного извлечения ценных компонентов, включая полиненасыщенные жирные кислоты.

На основе полученных CO_2 -экстрактов созданы новые продукты геродиетического назначения (ТУ 9160-169-04801346-05, ТУ 9160-170-04801346-05). Получены 2 патента РФ на изобретения.

Проведено исследование геродиетических продуктов с использованием CO_2 -экстрактов, полученных по усовершенствованной технологии, подтвердившее микробиологическую безопасность полученных продуктов.

С помощью тест-микроорганизмов *Escherichia coli* и *Tetrachimena pyriformis* проведена санитарно-гигиеническая оценка безопасности обслуживающего персонала при работе на усовершенствованной CO_2 -экстракционной установке.

Нанобиотехнологические аспекты

В структуру пищевых продуктов могут быть включены с высокой степенью упорядоченности любые вещества и нанобъекты, например, наночастицы селена или йода. С точки зрения охраны окружающей среды протеолитические ферменты являются наиболее приемлемыми из всех катализаторов, используемых в пищевой промышленности. Это обеспечивается способностью биокатализаторов растворяться в воде и полноценно функционировать в среде с нейтральным рН и при сравнительно низких температурах. Кроме того, благодаря их высокой специфичности, в результате применения биокатализаторов образуется совсем немного нежелательных побочных продуктов производства. Экологически чистые и энергосберегающие промышленные процессы, использующие биокатализаторы, активно внедряются в пищевых отраслях промышленности. Так, например, в КубГТУ и КНИИХП разработаны способы рационального использования коллаген- и кератинсодержащего сырья, обработанного мультиэнзимными композициями ферментов. Практическое значение имеет изучение влияния внешних технологических факторов (рН среды, температура, присутствие активаторов и ингибиторов) на протеолитическую активность ферментных препаратов. Изучена активность протеолитических ферментов внутренних органов и тканей растительных и животных рыб, а также сычужного фермента и фермента поджелудочной железы кур. Была выявлена зависимость скорости ферментативного гидролиза белка кильки, молока растительных и животных белков — от протеолитической активности ферментов системы фермент-субстрат. Максимальная скорость процесса отмечена при активности системы 0,3 ед/г, то есть при соотношении фермент: субстрат 1:4. Изучение протеолитической активности собственных ферментов кильки (мышечной ткани и внутренностей) показало, что оптимальным режимом является температура 50 °С, рН 6,5, при котором количество гидролизованного белка составило 35%.

При изучении степени протеолиза фарша кильки каспийской собственными протеолитическими ферментами выявлено, что с наибольшей скоростью идет нарастание водорастворимого азота, затем следуют — небелковый, азот концевых аминокислот и тирозин.

В представленных материалах убедительно показана также и практическая значимость результатов исследований для народного хозяйства страны. В состав кубанской научно-педагогической школы включены широко извест-

ные в стране и за рубежом ученые и производственники, занимающиеся теорией и практикой высоких технологий CO₂-обработки сельскохозяйственного сырья.

В связи с тем, что скорость автопротеолиза молок толстолобика значительно ниже, чем кильки, то для молок предложена обработка ферментами поджелудочной железы кур (трипсин и химотрипсин).

Установлено, что трипсины поджелудочной железы кур активны при рН 4,5, а химотрипсины — при рН 5,0.

Динамика накопления небелкового азота в молоках толстолобика при обработке ферментами поджелудочной железы кур свидетельствует, что глубина гидролиза достигает максимума через 6 ч (1900 мг/100 г молок).

Дальнейшее увеличение глубины протеолиза возможно при условии непрерывного удаления продуктов распада белка (аминокислот) с помощью микроультрафильтрации и консервирования ферментируемой смеси спиртом.

Авторами было предложено заменить процесс консервирования ферментируемой смеси обработкой низкочастотными электромагнитными полями (НЧ ЭМП).

Для изучения биологической стабильности гидролизата использовалась методика сравнения количества МАФАнМ образцов с консервантом (изопропанолом), обработанных НЧ ЭМП и контрольных. В готовом гидролизате, выработанном по новой технологии, не обнаружены санитарно-показательные микроорганизмы *E. coli*, *Pr. vulgaris*, *Staph. aureus*. Аналогичные результаты получены при ферментации смеси растительных и животных белков.

Исследовали закономерности ферментативного гидролиза белковых веществ кильки каспийской, толстолобика и молок толстолобика под действием собственных протеаз и ферментных препаратов мегатерина, протосубтилина Г20Х (140 ед/г), сычужного фермента (120 ед/г) и фермента поджелудочной железы кур (55 ед/г).

Теоретически обосновали технологию создания сбалансированных по химическому составу рыбо-растительных продуктов функционального назначения. Изучили влияние низкочастотных электромагнитных полей для угнетения нежелательной микрофлоры в период направленного ферментолиза.

Исследовали химический состав белковых гидролизатов и других компонентов рецептур продуктов функционального назначения (табл. 1).

Таблица 1

Аминокислотный состав рыбных гидролизатов, мг на 100 г

Аминокислоты	Толстолобик	Килька	Щука	Карп	Молоки
Аспарагиновая	850	1600	1610	1700	1950
Треонин	1190	790	795	900	860
Серин	990	580	570	790	880
Глутаминовая	2670	2300	2330	2700	2600
Пролин	1310	1120	1122	580	820
Глицин	940	1010	1012	610	700
Аланин	2150	1300	1210	1000	1400
Цистин	120	230	250	150	200
Валин	1114	980	970	1100	1000
Метионин	790	540	535	510	620
Изолейцин	1160	940	945	820	1100
Лейцин	1910	1400	1390	1800	1600
Тирозин	810	480	490	500	740
Фенилаланин	910	680	679	800	710
Гистидин	850	410	650	340	790
Лизин	2010	1600	1610	1920	1540
Аргинин	1145	1040	1030	900	1000
Триптофан	179	180	180	179	160

Рецептурный состав консервов, сбалансированных по основным питательным веществам, представлен в таблице 2.

Таблица 2

Рецептура консервов «Фрикадельки рыбо-растительные»

Наименование компонента	Содержание в консервах, %
Гидролизат рыбный	10
Нут	10
Молочная сыворотка	15
Рисовая крупа	13

Морковь	9
Лук пассированный	4,5
Шрот семян тыквы	9
Казеинат Na	1
СО ₂ -экстракт семян петрушки	0,08
СО ₂ -экстракт семян укропа	0,05
Масло растительное дезодорированное	5
Соль	0,6
Мука	6,77
Бульон	16

Необходимость развития и совершенствования технологии производства функциональных пищевых продуктов требует расширения познаний в области нанобиотехнологии переработки мяса, рыбы, молока, вторичных ресурсов, а также овощей и зерна.

В целом, коллективом краснодарских авторов научно обоснована технологическая концепция применения протеолитических ферментов и перспективного для пищевой промышленности инертного газа — диоксида углерода с целью существенного повышения эффективности процессов хранения и переработки сельскохозяйственного сырья.

Литература

1. Касьянов Г.И., Пехов А.В., Таран А.А. Натуральные пищевые ароматизаторы — СО₂-экстракты. — М.: Пищевая промышленность, 1978. — 178 с.
2. Касьянов Г.И. Технологические основы СО₂-обработки растительного сырья. — М.: Россельхозакадемия, 1994. — 132 с.
3. А.с. № 1089113 СССР. МПК С 11 В 3/00. Способ гидратации масла / Г.И. Касьянов, А.Ф. Загибалов, В.И. Бессарабов, Н.С. Аругюнян, Р.В. Казарян, В.В. Лисицкий, Е.П. Корнена. Заявка № 3461124/28-13. Бюл. № 16. 1984.
4. Артемьев А.В. Разработка и оценка потребительских свойств пищевых функциональных продуктов специального назначения с использованием растительных фосфолипидов / Автореф. дис. на соиск. ...к.т.н. — Краснодар: КубГТУ, 2004. — 21 с.
5. Стасьева О.Н., Латин Н.Н., Касьянов Г.И. СО₂-экстракты Компании Караван — новый класс натуральных пищевых добавок. — Краснодар: КНИИХП, 2008. — 324 с.

6. Шаззо Р.И., Касьянов Г.И., Запорожский В.А. Использование газожидкостных технологий в пищевой промышленности // Доклады Россельхозакадемии, — 2002. — № 2. — С. 60–62.
7. Касьянов Г.И. Нанобиотехнология переработки рыбного сырья [Текст] / Г.И. Касьянов, О.В. Сарапкина, С.В. Белоусова. — Краснодар: КубГТУ, КрасНИИРХ, 2006. — 151 с.
8. Расулов Э.М. Рыбные гидролизаты [Текст] / Э.М. Расулов, Д.С. Джаруллаев, Г.И. Касьянов. — Краснодар: КрасНИИРХ, 2000. — 120 с.
9. Русанова Л.А., Касьянов Г.И., Голод Б.И. Технические и микробиологические аспекты холодной стерилизации плодоовощного сырья // Хранение и переработка сельхозсырья. — 1995. — № 6. — С. 38–39.
10. Флауменбаум Б.Л., Касьянов Г.И., Окафор Г.И. Использование твердой двуокиси углерода для ускорения кристаллизации винного камня в виноградном соке / В сб. докл. 53-й научной конф. — Одесса: ОТИПП, 1993. — С. 70.
11. Быстрозамороженные блюда для школьников / Э.С. Гореньков, Г.И. Касьянов, В.С. Афанасьева, Е.Н. Кузнецова // Пищевая промышленность. — 1995. — № 6. — С. 24.
12. А.с. № 932673 СССР. МПК А 23 L 3/00. Способ стерилизации продуктов и материалов / Г.И. Касьянов, А.А. Таран, А.В. Пехов, В.С. Череватый, В.Н. Бессарабов. Заявл. 26.12.79. Заявка № 2858639/28.
13. А.с. № 1124019 СССР. МПК С 12 G 1/0,6. Способ производства газированного вина / Н.М. Агеева, В.И. Бессарабов, Г.И. Касьянов и др. Заявка № 35970 14/28-13. Б.№ 42, 1984.
14. А.с. № 1835839, С 12 Н 1/06. Ультразвуковая установка для осветления виноматериалов и соков / О.И. Квасенков, Э.П. Бабаев, Г.Р. Нариниянц, Г.И. Касьянов, Н.А. Артамонов. З.№ 4809496/13. Заявл. 03.04. 91.Б. 3 31, 1993.
15. Патент № 2277811 RU, МПК А 23L 1/29, 3/00. Способ производства консервов для детского питания «Суп-пюре из печени» / О.И. Квасенков, А.Ш. Бакр, Г.И. Касьянов. З. № 2004116453/13. З. 1.06.2004. Оpubл. 20.06.2006. Бюл. № 17.
16. Патент № 2277812 RU, МПК А 23L 1/29, 3/00. Способ производства консервов для детского питания «Рулетки из говядины с капустой и зеленью» / О.И. Квасенков, Р.Г. Кулиева, Г.И. Касьянов. З. № 2004116454/13. З. 1.06.2004. Оpubл. 20.06.2006. Бюл. № 17.
17. Патент № 2264749 RU, МПК А 23L 1/29, 1/30, С 12 Р 1/02. Способ производства композиции для геродиетического питания / О.И. Квасенков, Г.И. Касьянов, Н.С. Подшиваленко. З. № 2003102822/13. З. 31.01.2003. Оpubл. 27.11.2005. Бюл. № 33.

18. Патент на полезную модель № 54591 RU. Лабораторная установка для газожидкостной экстракции биологически активных веществ из растительного сырья / С.М. Силинская, Г.И. Касьянов. З. № 2006100325. З. 10.01.2006. Зарегистр. 10.07.2006. Оpubл. 20.08.2004. Бюл. № 27.
19. Патент № 2277803 RU, МПК А 23L 1/29, 3/00. Способ производства консервов для детского питания / О.И. Квасенков, А.Ш. Бакр, Г.И. Касьянов. З. № 2004116445/13. З. 1.06.2004. Оpubл. 20.06.2006. Бюл. № 17.
20. Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ № 2005610236 RU / Программа для нахождения параметров процесса соэкстракции ценных компонентов из растительного сырья (Соэкстракция) / Г.А. Сагайдак, Г.И. Касьянов. З. № 2004612379. З. 25.11.2004. Зарегистр. в Реестре программ для ЭВМ 25.01.2005.
21. Патент № 2218807 РФ, МПК А 23Z 3/04, 3/32. Способ переработки коллаген- и эластинсодержащего животного сырья / Е.И. Овчинникова, Г.И. Касьянов, В.С. Коробицын, Ю.Ф. Мишанин, В.И. Овчинников. З. № 2002114320/13. Заявл. 31.05.2002. Оpubл. 20.12.2003. Бюл. № 35.
22. Патент № - 2198566 RU, МПК – А23L1/325, 1/29. З. № - 2001103369/13. (з. – 7.02.2001, бюл. № - 5, оп. – 20.02.2003). Способ производства фрикаделей на рыбной основе / Г.И. Касьянов, О.И. Квасенков, Н.А. Студенцова, Е.Е. Иванова, М.Л. Чехомов.
23. Патент № - 2188556 РФ, МПК – А23В4/027, 4/20. З. № - 2001102176/13. (п.р. – 2.07.2002, з. – 25.01.2001, бюл. № - 25, оп. – 10.09.2002). Способ производства мясоовощных консервов / Г.И. Касьянов, О.И. Квасенков, Ф.Р. Шаizzo.
24. Патент № 2183674 RU, МПК- С 13 Д 3/02, 3/18. З. № - 2000131018/13. (з. – 13.12.2000, оп. – 20.06.2002, бюл. № - 17). Способ очистки диффузионного сока / Г.И. Касьянов, М.Г. Барышев, Р.С. Решетова, М.А. Гаманченко.
25. Патент № 2182787 RU, МПК- А23В4/027, 4/20. З. № - 2000119828/13. (з. – 26.07.2000, оп. – 27.05.2002, бюл. № - 15). Способ производства мясорастительных консервов / Г.И. Касьянов, М.А. Холодцов, О.И. Квасенков.
26. Патент № 2180489 RU, МПК- А23В4/027. З. № - 2000118760/13. (п.р. – 28.11.2001, оп. – 20.03.2002, бюл. № - 8). Способ производства мясорастительных консервов / О.И. Квасенков, Г.И. Касьянов, Н.В. Тимошенко.
27. Патент № 2175180- RU, МПК – А01С1/00. З. № - 200114613/13. (з. – 8.06.2000). Способ обработки семян / М.Г. Барышев, Г.И. Касьянов, Г.П. Ильченко, В.В. Магеровский.
28. Патент № 2172098 RU, МПК - А01F25/001, С13С1/00. З. № - 2000104937/13. (з. - 28.02.2000). Способ хранения сахарной свеклы / М.Г. Барышев, Г.И. Касьянов, Р.С. Решетова, Г.П. Ильченко.

К 20-ЛЕТИЮ СО ДНЯ СМЕРТИ АКАДЕМИКА Ю.А. ОВЧИННИКОВА

В.С. ВОРОБЬЕВ*, О.В. ВОРОБЬЕВА

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



17 февраля 2008 года исполнилось 20 лет со дня безвременной кончины Юрия Анатольевича Овчинникова, академика АН СССР и ВАСХНИЛ, вице-президента Академии наук СССР, директора Института биоорганической химии имени М.М. Шемякина (1970–1988) АН СССР (ныне – РАН, в 1990 году ему было присвоено второе имя – Ю.А. Овчинникова).

* **Автор для переписки:**

© 2008 г. Воробьев Вадим Сергеевич,
к.м.н., член Центрального Правления
Общества биотехнологов России
им. Ю.А. Овчинникова
119071 Москва, Ленинский пр-т, 33
E-mail: obr@biorosinfo.ru

Curriculum vitae. Ю.А. Овчинников родился 2 августа 1934 года в г. Москве. В 1952 году окончил в Красноярске среднюю школу с золотой медалью. В 1957 г. окончил химический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. В 1961 г. защитил диссертацию на степень кандидата химических наук. В 1966 году становится доктором химических наук. С 1963 г. он – старший научный сотрудник, заведующий лабораторией и заместитель директора по научной части Института химии природных соединений АН СССР (ныне – Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН). После внезапной смерти в 1970 г. директора этого института академика М.М. Шемякина возглавлял это учреждение в течение 18 лет, занимая также в нем должность заведующего отделом химии белка. Профессор МГУ им. М.В. Ломоносова, заведующий кафедрой биоорганической химии (с 1972 г.), заведующий лабораторией химии белка Института белка АН СССР в г. Пущино (с 1973 г.). В 1968 г. его избирают членом-корреспондентом АН СССР, в 1970 г. – академиком АН СССР. Член Президиума, председатель секции химико-технологических и биологических наук Президиума АН СССР (с 1973 г.). Вице-президент АН СССР с 1974 по 1988 гг.

Вклад в науку. Скупая биографическая справка не дает представления об истинном масштабе личности и свершенных дел. Им опубликовано более 500 работ лично и в соавторстве.

Ю.А. Овчинниковым многое сделано в области изучения биологических мембран. Конкретный интерес был сосредоточен на исследовании ионофоров. Им было выяснено строение, осуществлен синтез и изучена связь между структурой и биологической функцией большой группы мембрано-активных депсипептидов валиномициновой и энниатиновой групп. Этой теме была посвящена его докторская диссертация «Исследования по химии депсипептидов». За этот цикл работ ученый был удо-

стоен в 1974 году Ленинской премии (совместно с В.Т. Ивановым). По-видимому, не случайно в сквере перед новым зданием Института биоорганической химии появилось скульптурное изображение пространственного строения валиномицина.

Большое внимание уделялось им исследованиям структуры и функции белков. Он вместе с коллегами расшифровал полную структуру фермента аспаратами-нотрансферазы. Были тщательно изучены токсины яда кобры, пчел и скорпиона. Был выполнен цикл работ по определению первичной структуры ДНК-зависимой РНК-полимеразы *E. coli* (это было отмечено Государственной премией 1982 г.).

Очень важным и приоритетным было его целенаправленное изучение структуры Na^+ , K^+ -АТФазы, где ему удалось достичь успехов в условиях жесткой конкуренции с западными молекулярными биологами, которые проводили параллельные исследования. Это касается и работ Ю.А. Овчинникова по выяснению структурных основ функционирования главного белка бактериородопсина — в конце 70-х годов им была определены его первичная структура и топография. Кроме того, была определена аминокислотная последовательность другого ретинальсодержащего белка — родопсина.

Юрий Анатольевич одним из первых в нашей стране оценил практическое значение генной инженерии, что способствовало созданию отечественной биотехнологии. Им был сформирован специальный межведомственный научно-технический совет по проблемам физико-химической биологии и биотехнологии при ГКНТ и Президиуме АН СССР и организован межотраслевой научно-технический комплекс «Биоген». Благодаря этому в кратчайшие сроки стало возможным промышленное получение генно-инженерных препаратов — интерферонов, гормонов роста и т.д.

Организационная работа. Активные занятия наукой Ю.А. Овчинников мог сочетать с организационной деятельностью. 18 лет директорства и 14 лет вице-президентства в большой академии — подобное выдерживали немногие. Но такая судьба выпала ему, и он справился со всеми встававшими перед ним ответственными задачами.

Нынешнему поколению трудно оценить, что такое организовать правительственное постановление по развитию той или иной отрасли знаний или производства. А Юрий Анатольевич подготовил целых три (в 1973, 1981 и 1985 гг.) и добился их принятия: они все были направлены на развитие физико-химической биологии в нашей стране. В данном случае не нужно высоких эпи-

тетов. Достаточно лишь упомянуть, что многое из того, что имеет современная отечественная фундаментальная наука в области молекулярной биологии, заложено Ю.А. Овчинниковым (особенно это касается материальной базы и кадров).

Он был членом многочисленных комиссий, обществ, организаций. Возглавлял ряд межведомственных и академических научных советов, участвовал в работе редколлегий советских и зарубежных научных журналов, был членом Комитета по Ленинским и Государственным премиям СССР при Совете Министров СССР. Его хватало на все, и повсюду чувствовался эффект от его присутствия, его активной позиции и стремления добиться только позитивного итога.

Особо следует подчеркнуть его организационную работу в международном масштабе. Здесь он был результативен в высшей степени, что отмечали многие зарубежные специалисты (среди них Нобелевские лауреаты Фредерик Сенгер, Александер Тодд и др.). В 1984–1986 гг. он занимал одну из престижнейших международных должностей — президента Федерации европейских биохимических обществ (FEBS).

Он состоял членом консультативного совета международной организации по поддержке медицинских исследований (СІВА, 1971–1988), сопредседателем Европейского комитета экспертов по биоматериалам при ЮНЕСКО (1977–1988), членом совета Международного института изучения энергетических ресурсов и экологии Королевской академии наук (Швеция, 1978–1988), научным руководителем приоритетного направления «Ускоренное развитие биотехнологии» Комплексной программы научно-технического прогресса стран-членов СЭВ (1985–1988) и т.д. — список можно продолжать еще долго. Излишне говорить о его участии в международных форумах, симпозиумах, конференциях — и на этом участке он блестяще представлял отечественную науку.

Общественная деятельность. Однако неуместной натуре Ю.А. Овчинникова было мало и перечисленных должностей. Он взял на себя и нес с честью в течение 10 лет обязанность президента общества «СССР-Испания» (1978–1988 гг.), проявив при этом огромную инициативу и способствовал восстановлению культурных связей между двумя странами. Не отказался он и от поста председателя правления Центрального совета Всесоюзного добровольного общества борьбы за трезвость (1985–1988 гг.). Недобросовестные историки могут по-разному истолковать этот факт, но в отношении Юрия Анатольевича он все равно безупречен: и здесь

он как цельная личность стремился внести свой вклад в борьбу с национальным бедствием — пьянством, достигшим в 80-е годы беспрецедентных размеров. Выполнял Ю.А. Овчинников и другие ответственные обязанности: был членом Президиума Верховного Совета РСФСР, членом ревизионной комиссии ЦК КПСС и др.

Награды. Ясно, что такая выдающаяся личность была удостоена наград как на родине, так и за ее пределами. Овчинникову было присвоено звание Героя Социалистического Труда. Он был награжден тремя орденами Ленина, медалью «За доблестный труд», золотой медалью «Серп и молот», орденами и медалями ряда зарубежных стран. Помимо вышеуказанных премий, ему в 1997 г. была посмертно присуждена премия Правительства Российской Федерации в области науки и техники. Еще при жизни он был удостоен именной премии АН СССР им. М.М. Шемякина (своего учителя) за цикл работ в области химии белка (1980). Обширен и список его зарубежных почетных званий. Он был избран почетным иностранным членом Европейской академии наук, искусств и литературы (Франция, 1980), Испанской Королевской академии инженерных наук (1985), Барселонской академии наук и искусств (Испания, 1985), Всемирной академии наук и искусств (Швеция, 1985), почетным членом Японского биохимического общества (1975), Американского философского общества (США, 1977), Парижского университета им. Пьера и Мари Кюри (Сорбонна, Франция, 1977), Упсальского университета (Швеция, 1977) и др.

Развитие его идей и наследия. Говоря о развитии творческого наследия ученых такого масштаба, нельзя ограничиваться только прямыми нисходящими линиями, проецирующимися на его преемников и непосредственных продолжателей. Хотя тут мы имеем практически полное сохранение научных направлений и традиций школы М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова.

Безусловно, подлинным центром всего овчинниковского дела является дворец биологической науки, созданный рано ушедшим из жизни исследователем, — Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН с его Пушкинским филиалом. Функционируют в русле идей ученого две московские кафедры: кафедра биоорганической химии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова и кафедра физико-химической биологии и биотехнологии факультета молекулярной и биологической физики МФТИ. В ИБХ РАН проводятся ежегодные (обычно осенью) чтения, посвященные памяти Ю.А. Овчинникова (уже состоялось 10 чтений).

Отрадно, что и семья также продолжает его дело. Вдова Татьяна Владимировна Овчинникова руководит Учебно-научным центром при ИБХ РАН, созданным Юрием Анатольевичем еще в 1982 г. Старшая дочь Анастасия окончила факультет фундаментальной медицины МГУ и избрала профессию врача, а младшая — Ксения пошла по стопам отца и по окончании вуза занялась молекулярной биологией.

Что же касается общего влияния Ю.А. Овчинникова на ход развития молекулярной биологии в стране, то оно бесспорно и проявляется в виде боковых цепей по вертикали и горизонтали, проникнув во многие разделы науки, образования и практики в области физико-химической биологии и биотехнологии.

Для увековечения памяти выдающегося ученого существует традиция присуждения именных премий или медалей. В отношении Юрия Анатольевича Президиум РАН принял решение о регулярном присуждении премии РАН имени Ю.А. Овчинникова в области физико-химической биологии и биотехнологии. К настоящему времени эту премию получили: академики РАН А.С. Спирин (1992), Ю.С. Оводов, члены-корреспонденты РАН Е.В. Гришин, В.М. Липкин, профессор П.П. Филиппов (1997) и др. До утверждения данной премии существовало положение о золотой медали РАН имени Ю.А. Овчинникова. Ею был награжден преемник ученого на посту директора ИБХ академик РАН В.Т. Иванов в 1991 г.

В свою очередь, Общество биотехнологов России учредило медаль имени Ю.А. Овчинникова для молодых ученых за лучшую работу по биотехнологии и физико-химической биологии. Этой медали удостоены: С.В. Баландин (Москва) — 2005 год, Н.О. Жила (Красноярск) — 2006 год.

Следует подчеркнуть, что Общество биотехнологов России, созданное в 2003 г., носит имя Ю.А. Овчинникова. Президентом этого общества ныне является его ученик профессор Р.Г. Василев (а первым президентом был человек, близко знавший Ю.А. Овчинникова — академик РАН А.А. Воробьев). Эта важная общественная инициатива работает на объединение исследователей на федеральном и региональном уровнях и способствует международному сотрудничеству в данной сфере. Помимо широкой научно-образовательной и производственной деятельности, Общество издает и настоящий журнал, также носящий имя Ю.А. Овчинникова.

Немаловажно, что сохраняется память об Ю.А. Овчинникове и в Красноярске — городе, где прошло его

детство и где он окончил школу: ныне — это Красноярская средняя школа № 10, которой в 1997 году присвоено имя Ю.А. Овчинникова (подробнее об этом см. в настоящем журнале, 2007, Т. 3, № 1, с. 68–69).

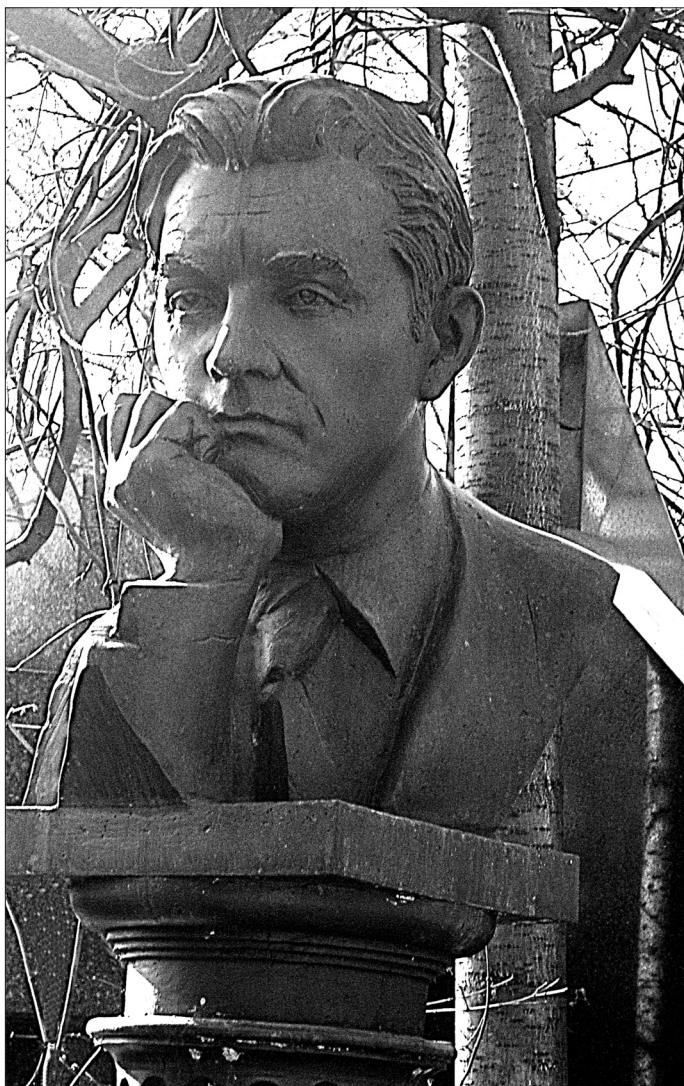


Рис. 1. Памятник Ю.А. Овчинникову на Новодевичьем кладбище

Надо сказать, что Юрия Анатольевича помнят и чтут многие. На его могиле на Новодевичьем кладбище установлен высокохудожественный памятник известного скульптора Ю.Г. Орехова (рис. 1). В 20-летие со дня смерти ученого, в морозный день 17 февраля 2008 г. к месту его упокоения пришло более 100 человек — родных, близких, учеников, продолжателей его дела, коллег, известных молекулярных биологов, молодых специалистов. В скорбной тишине они почтили память замечательного, необычного человека.

Наиболее важные труды. Для ученого всегда важно, какие труды он оставил следующим поколениям.

Биографии, комментарии, предания стираются временем, а идеи остаются. Полный список работ Ю.А. Овчинникова напечатан в 1991 году в академической серии «Биобиблиография ученых АН СССР». Ниже приведены наиболее значимые его работы: книги, основополагающие статьи, выступления.

Книги

1. Мембранно-активные комплексоны. — М.: Наука, 1974. — 463 с. (соавт.: Иванов В.Т., Шкроб А.М).
2. Membrane-active complexones. — Amsterdam etc., Elsevier, 1974. — Vol. 12. — 464 p. (Co-auth.: Ivanov V.T., Shkrob A.M).
3. Строение и функции белков. — М., Педагогика, 1983. — 128 с. (Б-чка Дет. энцикл. «Ученые — школьнику») (Соавт.: Шамин А.Н).
4. Биоорганическая химия. — М., Просвещение, 1987. — 815 с.
5. Химия жизни: Избранные труды / Сост. Т.А. Соркина. Отв. ред. В.Т. Иванов. — М.: Наука, 1990. — 495 с.

Редактирование книг

1. Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков / Нидервайзер А., Патаки Д. Пер. с англ. / Ред. — М.: Мир, 1974. — 462 с.
2. Барбье М. Введение в химическую экологию. Пер с фр. / Ред. — М.: Мир, 1978. — 229 с.
3. Итоги и перспективы развития биоорганической химии и молекулярной биологии / Браунштейн А.Е., Овчинников Ю.А., Бартон Д.Х.Р. и др. [Сб. ст.] / Отв. ред. вместе с М.Н. Колосовым. — М.: Наука, 1978. — 244 с.
4. Membrane transport processes / Ed. by D.C. Tosteson, Yu. A. Ovchinnikov, R. Latoire. — New York: Raven Press, 1978. — Vol. 2. — 452 p.
5. Основы биохимии. В 3-х т. / Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э. и др. Пер. с англ. / Ред. — М.: Мир, 1981.
6. Препаративная биохимия липидов / Бергельсон Л.Д. и др. / Отв. ред. — М.: Наука, 1981. — 259 с.
7. Фундаментальные науки — медицине: Совм. сессия общ. собр. АН СССР и общ. собр. АМН СССР, 19–20 ноября 1980 г. / Гл. ред. — М.: Наука, 1981. — 279 с.
8. Физиологические науки — медицине / Пред. редкол. — Л.: Наука, 1983. — 189 с. (Фунд. науки — медицине).
9. Proceedings of XVI FEBS congress. Moscow, USSR, 25–30 June, 1984 / Ed. by Yu.A. Ovchinnikov. — Utrecht: VNU Sci. press, 1985. — Pts A – B – C.
10. Биология и медицина: Философские и социальные проблемы взаимодействия. — М.: Наука, 1985. — 318 с.

11. Перспективы биоорганической химии и молекулярной биологии / Отв. ред. — М.: Наука, 1986. — 352 с.
12. Химия и мировоззрение: Сб. ст. / Отв. ред. — М., 1986. — 352 с.
13. Наука и человечество: Межд. ежегодник, 1986 / Редкол. — М.: Знание, 1986. — 399 с.
14. Вавилов Н.И. Иммуитет растений к инфекционным заболеваниям / Гл. ред. — М.: Наука, 1986. — 519 с.
15. Вавилов Н.И. Пять континентов / Гл. ред. — 2-е изд. — Л.: Наука, 1987. — 213 с.
16. Вавилов Н.И. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости / Гл. ред. — Л.: Наука, 1987. — 260 с.
17. Вавилов Н.И. Происхождение и география культурных растений / Гл. ред. — Л.: Наука, 1987. — 439 с.
- полученных из спектров ^{13}C -ЯМР // *Eur. J. Biochem.* — 1977. — Vol. 78. — P. 63–82 (англ.).
11. Первичная структура РНК-полимеразы *Escherichia coli*. Нуклеотидная последовательность гена *groB* и аминокислотная последовательность β -субъединицы // Докл. АН СССР. — 1980. — Т. 253. — № 4. — С. 994–998.
12. Первичная структура РНК-полимеразы *Escherichia coli*. Нуклеотидная последовательность гена *groC* и аминокислотная последовательность β -субъединицы // Докл. АН СССР. — 1981. — Т. 261. — № 3. — С. 763–768.
13. Родописин и бактериородопсин: структурно-функциональные отношения // *FEBS Lett.* — 1982. — Vol. 148. — N 2. — P. 179–191 (англ.).
14. Прямая экспрессия гена человеческого лейкоцитарного интерферона F в клетках *Escherichia coli* // Докл. АН СССР. — 1982. — Т. 265. — № 1. — С. 238–242.
15. Биотехнология и ее место в научно-техническом прогрессе // *Вест. АН СССР.* — 1982. — № 4. — С. 4–17 (одноименные статьи опубликованы в: *Наука и жизнь.* — 1982. — № 6. — С. 14–20; *Сельскохозяйственная биология.* — 1982. — Т. 17. — № 5. — С. 579–592).

Статьи*

1. Исследование путей синтеза тетрациклинов // *Антибиотики.* — 1961. — № 7. — С. 585–594.
2. Синтез пептидов в растворе на полимерном носителе. 1. Синтез глицилглицил-L-лейцилглицина // *Tetrahedron Lett.* — 1965. — N 27. — P. 2323–2327 (англ.).
3. Масс-спектрометрическое определение аминокислотной последовательности пептидов // *Nature.* — 1966. — N 211. — P. 361–366 (англ.).
4. Связь между структурой и биологической функцией в пептидных системах // *Вестн. АН СССР.* — 1968. — № 7. — С. 43–50.
5. Циклодепептиды как химические инструменты исследования ионного транспорта через мембраны // *J. Membrane Biol.* — 1969. — Vol. 1. — P. 402–430 (англ.).
6. Влияние антаманда и пергидроантаманда на проницаемость модельных и биологических мембран // *Experientia.* — 1972. — Vol. 28. — P. 388–401 (англ.).
7. Сэндвичевые комплексы как функциональная форма эннатиновых ионофоров // *FEBS Lett.* — 1973. — Vol. 36. — N 1. — P. 65–71 (англ.).
8. Полная первичная структура цитоплазматической аспаратаминотрансферазы из сердечной мышцы свиньи // *Изв. АН СССР. Сер. хим.* — 1974. — Т. 5. — С. 1189–1196.
9. ДНК-зависимая РНК-полимераза *E. coli*. Полная аминокислотная последовательность α -субъединицы // *Биоорган. химия.* — 1977. — Т. 3. — № 2. — С. 283–286.
10. Уточнение конформации валиномицина в растворе на основании констант спин-спинового взаимодействия,
16. Биоорганическая химия: итоги и перспективы // *ЖБХО.* — 1982. — Т. 27. — № 2. — С. 71–77.
17. Химико-ферментативный синтез и клонирование гена проинсулина человека // Докл. АН СССР. — 1983. — Т. 270. — № 3. — С. 743–747.
18. Экспрессия в клетках *Escherichia coli* мутантного интерферона $\alpha 2$ человека // *Молекуляр. биология.* — 1984. — Т. 18. — Вып. 1. — С. 48–59.
19. Конформация двойной спирали грамицидина А в растворе по данным ЯМР // *FEBS Lett.* — 1984. — Vol. 165. — N 1. — P. 51–56 (англ.).
20. Исследование ГТР-связывающего белка из сетчатки крупного рогатого скота. Полная аминокислотная последовательность γ -субъединицы // *Биоорган. химия.* — 1984. — Т. 10. — № 11. — С. 1572–1575.
21. Биоорганическая химия полипептидных нейротоксинов // *Pure and Appl. Chem.* — 1984. — Vol. 56. — N 8. — P. 1049–1068 (англ.).
22. Изучение трансмембранного ионного канала грамицидина А по данным ^1H -ЯМР. Димер «голова-к-голове» из правых одиночных спиралей // *FEBS Lett.* — 1985. — Vol. 186. — N 2. — P. 168–174 (англ.).
23. Эффективный метод олигонуклеотиднаправленного мутагенеза фрагментов ДНК // *Биоорган. химия.* — 1985. — Т. 11. — № 5. — С. 621–627.
24. Общий подход к конструированию синтетических ДНК // *Биоорган. химия.* — 1985. — Т. 11. — № 11. — С. 1533–1546.

* Часть статей — в соавторстве

25. Биология и биотехнология: достижения и прогнозы / Будущее науки: Межд. ежегодн. — М.: Знание, 1985. — Вып. 18. — С. 10–21.
26. Философские и социальные аспекты взаимодействия физико-химической биологии и медицины / Биология и медицина: Философские и социальные проблемы взаимодействия. — М.: Наука, 1985. — С. 11–23.
27. Структурное сходство быстрых натриевых каналов и ацетилхолинового рецептора // Биол. мембраны. — 1985. — Т. 2. — № 10. — С. 957–961.
28. Трехмерная структура Na^+K^+ -АТФазы, выявленная с помощью электронной микроскопии двумерных кристаллов // FEBS Lett. — 1985. — Vol. 190. — N 1. — P. 73–76 (англ.).
29. Нуклеотидная последовательность кДНК и первичная структура α -субъединицы Na^+K^+ -АТФазы почек свиньи // Докл. АН СССР. — 1985. — Т. 285. — № 6. — С. 1490–1495.
30. Нуклеотидная последовательность кДНК и первичная структура β -субъединицы Na^+K^+ -АТФазы почек свиньи // Докл. АН СССР. — 1986. — Т. 287. — № 6. — С. 1491–1496.
31. Жизнь и деятельность Д.И. Менделеева / Д.И. Менделеев: 150 лет со дня рождения, 1834–1984. — М., 1986. — С. 15–36.
32. Биотехнология — промышленный переворот XXI века. — М., 1986. — С. 13–21.
33. Семейство генов Na^+K^+ -АТФазы человека. Не менее пяти генов и (или) псевдогенов, гомологичных α -субъединице // Докл. АН СССР. — 1987. — Т. 294. — № 3. — С. 734–738.
34. Детальный структурный анализ экспонированных доменов мембранно-связанной Na^+K^+ -АТФазы. Модель трансмембранной организации // FEBS Lett. — 1987. — Vol. 217. — N 2. — P. 269–274 (англ.).
35. Изучение топографии мембранных белков // Trends Biochem. Sci. — 1987. — Vol. 12. — N 11. — P. 434–438 (англ.).
36. Фосфодиэстераза циклического GMP из сетчатки быка. Аминокислотная последовательность α -субъединицы и нуклеотидная последовательность соответствующей кДНК // Докл. АН СССР. — 1987. — Т. 296. — № 2. — С. 487–491.
37. Структура и функции ионных насосов биологических мембран // Вестн. АН СССР. — 1987. — № 12. — С. 34–45.
38. Семейство генов Na^+K^+ -АТФазы человека. Структура гена каталитической субъединицы (изоформа αIII) и ее корреляция со структурными характеристиками белка // FEBS Lett. — 1988. — Vol. 233. — N 1. — P. 87–94 (англ.).
39. Два соседних цистеиновых остатка в С-концевом цитоплазматическом фрагменте родопсина быка пальмитированы // FEBS Lett. — 1988. — Vol. 230. — N 1. — P. 1–5 (англ.).
40. Фотосинтетический реакционный центр Chlorophlexus aurantiacus. I. Первичная структура L-субъединицы // FEBS Lett. — 1988. — Vol. 231. — N 1. — P. 237–242 (англ.).
41. Фотосинтетический реакционный центр Chlorophlexus aurantiacus. II. Первичная структура M-субъединицы // FEBS Lett. — 1988. — Vol. 232. — N 2. — P. 364–368 (англ.).
42. Родопсин осьминога. Нуклеотидная последовательность кДНК и первичная структура белка // FEBS Lett. — 1988. — Vol. 232. — N 1. — P. 69–72 (англ.).
43. «Вера в будущее России, всегда жившая во мне». Дмитрий Иванович Менделеев (1834–1907) / В кн.: Судьбы творцов российской науки. — М.: Эдиториал УРСС, 2002. — С. 176–189.

Литература о нем

1. Юрий Анатольевич Овчинников. Жизнь и научная деятельность / Под ред. В.Т. Иванова. — М., Наука, 1991. — 255 с.
2. Овчинников Юрий Анатольевич. Биобиблиография ученых СССР / Сост. Н.Б. Полякова, Е.Д. Дьяченко, Т.В. Овчинникова. — М.: Наука, 1991. — 153 с.
3. Иванов В.Т. Очерк научной деятельности академика Ю.А. Овчинникова (1934–1988) / В сб.: Ю.А. Овчинников. Химия жизни. Избранные труды. — М.: Наука, 1990. — С. 5–15.
4. Овчинникова Т.В. Наукою призванный: творец и организатор. Юрий Анатольевич Овчинников (1934–1988) / В кн.: Судьбы творцов российской науки. — М.: Эдиториал УРСС, 2002. — С. 196–205.
5. Овчинников Юрий Анатольевич // Биологи. Биограф. спр. — Киев, 1984. — С. 464–465.
6. Воробьев В.С. Академик Овчинников — легенда российской биологии // Медицинская газета, № 58, 30 июля 2004 г.

См. также информацию о нем на сайтах:

- www.biorosinfo.ru
 www.ibch.ru
 www.ibch.fizteh.ru/history/OvchinnikovYuA
 www.all-about-msu.ru

Резюме. В статье, посвященной 20-летию со дня смерти выдающегося отечественного молекулярного биолога Ю.А. Овчинникова, приводятся биографические данные о нем и кратко анализируется его научная и общественная деятельность. Дается список основных трудов ученого и литература о нем.

Ключевые слова: история науки, молекулярная биология, биографии, Юрий Анатольевич Овчинников.

TO ACADEMICIAN YURI A. OVCHINNIKOV'S MEMORIAL DATE: 20 YEARS FROM HIS DEATH

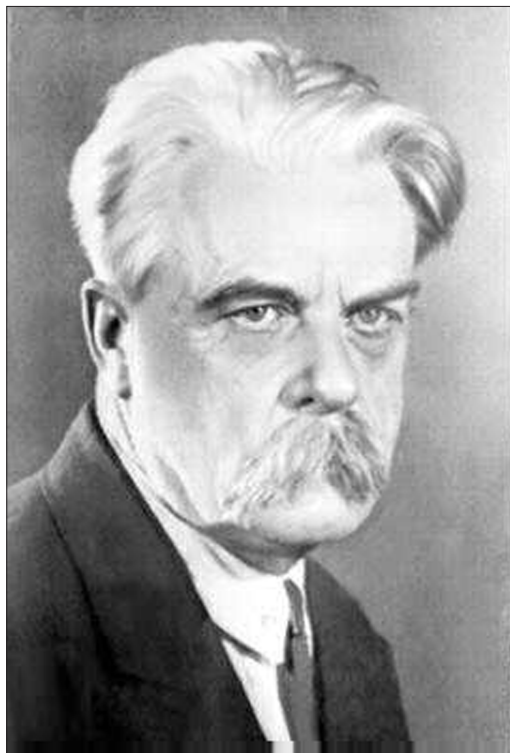
V.S. VOROBYEV, O.V. VOROBYEVA

Ovchinnikov Society of Biotechnologists of Russia, Moscow

The biography of an outstanding Russian molecular biologist Yuri Ovchinnikov was presented on occasion of 20 years from his death. A short analysis of his scientific and social activity was performed. A list of scientist's main works and biographies was applied also.

Keywords: history of science, molecular biology, biographies, Yuri A. Ovchinnikov.

ЮБИЛЕЙНЫЕ И ЗНАМЕНАТЕЛЬНЫЕ ДАТЫ 2008 ГОДА

К 80-летию выхода в свет статьи Н.К. Кольцова
«Физико-химические основы морфологии»*

В 2008 году исполняется 80 лет со дня выхода в свет статьи Николая Константиновича Кольцова «Физико-химические основы морфологии». Она появилась на двух языках: русском — в журнале «Успехи экспериментальной биологии», 1928, Сер. Б, Т. 7, № 1, С. 3–31 и немецком — в журнале «Biologisches Zentralblatt»: N.K. Koltzoff. Physikalisch-chemische Grundlage der Morphologie. 1928. Bd. 48. S. 345–369 (рис. 1). В 1929 г. она была переиздана на русском языке в виде отдельной брошюры (М.-Л., Госиздат, 58 с.), затем была помещена в сборник работ Н.К. Кольцова «Организация клетки» (1936, с. 461–490), а впоследствии была перепечатана в книге «Классики советской генетики. 1920–1940» (Л., 1968, с. 58–92).

Интересно, что в 1928 году произошли два знаковых события в биологии: публикация указанной статьи Кольцова и сообщение Гриффита о трансформирующем факторе — позже было показано, что это ДНК (подробнее о последнем — в следующих номерах журнала).

Главной идеей статьи Н.К. Кольцова было провозглашение принципа самоудвоения матричным способом гигантской полимерной молекулы, которой потом автор дал название «наследственной молекулы». Им расширялся перечень распространенных в биологии тезисов типа «Каждая клетка — от клетки» до такого, как «Каждая молекула — от молекулы». Это подкреплялось его соображениями о том, что сложные белковые молекулы (он считал наследственную молекулу белком) не могут синтезироваться в организме заново, а должны воспроизводиться на заправке, исходной молекуле-матрице. Был высказан ряд предположений о механизмах, перебрасывающих мост от физики и химии к биологии. Все это было ново, непонятно и значительно опережало время. Поэтому рассуждения ученого воспринимались сдержанно, зачастую как парадокс.

Таким образом, как это часто бывает в науке, оценка реальной значимости работы Н.К. Кольцова со стороны ученых того времени не соответствовала ее революционной сущности. Истинное значение статьи Кольцова было понято ретроспективно. Современники не были готовы к столь провидческому подходу. Не было дано возможности восхититься этим событием в полной мере даже соотечественникам, несмотря на выступление Николая Константиновича в Ленинграде 12 декабря 1927 г. на 1-м торжественном заседании III Всесоюзного съезда зоологов, анатомов и гистологов, публикацию об этом в материалах съезда (Н.К. Кольцов. Физико-химические основы морфологии. Автореф. доклада на 3 Всесоюзном съезде зоологов, анатомов и гистологов. Л., 1928. С. 39–41) и последующие перепечатки.

Кроме того, правильной и своевременной исторической оценке открытия выдающегося ученого на родине не способствовало и четвертьвековое предание забвению имени Н.К. Кольцова, организованное сверху, или, «в лучшем случае», — критика и искажение его мыслей. Запоздалое восхищение гениальностью Кольцова, которым пронизаны многие русскоязычные биографические работы второй половины и конца XX века (В.М. Польшин, С.Э. Шноль, В.В. Бабков и др.), вполне понятно и объяснимо. Были, безусловно, исследования, комментарии и воспоминания прямых учеников — Н.В. Тимофеев-Ресовский, Б.Л. Астауров, П.Ф. Рокицкий, Н.П. Дубинин, И.А. Рапопорт и др., которые также помогали воссоздать верную картину, но все это произошло значительно

* Материал подготовлен О.В. Воробьевой

BIOLOGISCHES ZENTRALBLATT

BEGRÜNDET VON J. ROSENTHAL

HERAUSGABE UND REDAKTION:
GEH. REG.-RAT PROF. DR. C. CORRENS
PROF. DR. R. GOLDSCHMIDT
PROF. DR. O. WARBURG
IN BERLIN

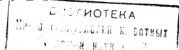
ACHTUNDVIERZIGSTER BAND
1928

MIT 174 ABBILDUNGEN UND KURVEN IM TEXT UND 85 TABELLEN



VERLAG VON GEORG THIEME / LEIPZIG

1928



346

N. K. Koltzoff

sind: das höchste Ideal eines Naturforschers ist, all die Teile des festen Landes durch haltbare Landesengen zu vereinigen.

Ich werde den Versuch machen, eine Landesenge zwischen dem mächtigen physikalisch-chemischen Kontinent und dem Archipel der biologischen Inseln zu werfen. Es kann geschehen, daß ich manchmal nicht genug Baumaterial haben werde, es soll mir dann gestattet werden ein Boot zu benutzen oder gar über dem Wasser auf dem Flugzeug der Naturphilosophie dahinzufiegen. Das Problem einer Verbindung zwischen der Physiko-Chemie und der Biologie ist so umfangreich, daß der Bau einer ununterbrochenen Landesenge noch zu schwer für unsere Zeit ist.

I.

Das wichtigste Merkmal, welches das Lebendige vom Toten unterscheidet, ist die Form der lebendigen Organismen — die Morphe. Natürlicherweise hat die Morphologie, die Wissenschaft, die die Form betrachtet, eine Grundbedeutung in der Reihe anderer biologischer Disziplinen, sie ist früher als die anderen entstanden und herrschte im Laufe von zweitausend Jahren fast ungeteilt. Für Aristoteles war der Begriff der Form eine Antithese zum Begriff des Stoffes, und diese Entgegensetzung war die Grundlage seines Dualismus; sie blieb bis zu unserer Zeit erhalten und findet ihren Ausdruck in der Einteilung aller Biologen in zwei Gruppen: Morphologen-Anatomen und Systematiker einerseits und Physiologen, Biochemiker und Biophysiker andererseits.

Auf dem Gebiet der wissenschaftlichen biologischen Forschung blieben die Probleme der Form und des Stoffes bis auf die letzte Zeit fast ebenso getrennt wie zu Aristoteles Zeit. Der Versuch einiger moderner Forscher, eine Analogie zwischen der Form des lebendigen Organismus und einem Kristall zu ziehen, war kaum tiefer gewesen als derselbe Vergleich Aristoteles.

Aristoteles verglich die Form der Organismen mit der Form der von dem Bildhauer angefertigten Statue. Man bemerkt aber sogleich den wesentlichen Unterschied zwischen der Form des menschlichen Kopfes und der z. B. aus Wachs angefertigten Skulptur dieses Kopfes, obwohl die äußerlichen Züge in beiden Fällen völlig identisch sein können. Die Form der Wachsmaske ist ganz von außen genommen, alle Eigenschaften des Wachstoffs selbst in allen Richtungen sind ganz gleich, ob wir die Elastizität, die Brechung für die Licht- bzw. Schallwellen nehmen usw. Dieselben Eigenschaften eines lebendigen Kopfes, sowie verschiedener Teile des Kopfes sind in allen Richtungen verschieden: durch diese Vektoreigenschaften eines jeden Organismenteils werden auf allen Entwicklungsstufen die äußerlichen Kon-

N. K. Koltzoff, Physikalisch-chemische Grundlage der Morphologie 345

- Riese, K., Diss. Kiel 1928 (im Druck).
Roscoe, M. V., Bot. Gaz. Bd. 84 S. 307ff. (1927).
Ruttler, M. L., Univ. Californ. Publicat. Bot. 11 S. 159ff. (1927).
Rybin, V. A., Труд. прикладн. Ботан. Bd. 16 S. 187ff. (1926).
— Труд. прикладн. Ботан. Bd. 17 S. 101ff. (1927).
Salaman, R. N., Vortrag Genetik. Kongr. Berlin (1927).
Schellenberg, G., Bot. Arch. 1 S. 257ff. (1922).
Schürhoff, P. N., Rep. Fedde Beih. 41 (1926a).
— Die Zytologie der Blütenpflanzen. Stuttgart (1926b).
Skalińska, M. u. S. Cuchtmann, Bibl. Univ. L. Poloniae Fasc. 19 (1927).
Smith, H. B., Genet. 12 S. 84ff. (1927).
Sorokin, H., Genet. 12 S. 59ff. (1927).
Strasburger, E., Histol. Beitr. H. 1. Jena (1888).
Sugiura, T., Tokyo botan. Magaz. 41 S. 49ff. (1927).
Sweschnikowa, J. N., Труд. прикладн. Ботан. Bd. 17 S. 37ff. (1927).
Tahara, M., Tokyo botan. Magaz. 29 S. 48ff. (1915).
Tischler, G., Arch. f. Zellforsch. 1 S. 33ff. (1908).
— Arch. f. Zellforsch. 5 S. 622ff. (1910).
— Progr. rei botan. 5 S. 164ff. (1915).
— Allgemeine Pflanzenkaryologie. Berlin (1921/22).
— Tabulae Biol. 4 S. 1ff. (1927a).
— Planta 4 S. 617ff. (1927b).
— Vortrag Genetik. Kongr. Berlin (1927c).
v. Tschermak, E. u. H. Bleier, Ber. D. botan. Ges. 44 S. 110ff. (1926).
Tschernourow, M. B., Известия Киевск. Ботан. Сад. Bd. 5/6 S. 107ff. (1927).
Vilmorin, R. u. M. Simonet, C. R. Acad. Sci. Paris 184 S. 164ff. (1927a).
— C. R. Soc. Biol. Paris 96 S. 166ff. (1927b).
v. Wettstein, F., Ergebn. d. Biol. 2 S. 311ff. (1927).
— R., Handb. d. system. Bot. 3. Aufl. Leipzig u. Wien (1924).
— Vortrag Genetik. Kongr. Berlin (1927).
Watzel, G., Diss. Kiel (1928) (noch nicht erschienen).
Winge, O., Diss. Kopenhagen (1917).
Ziegenpeck, H., Bot. Arch. 17 S. 212ff. (1927).
Zimmermann, W., Zschr. f. Bot. 19 S. 129ff. (1927).
N. B. Die Arbeiten vor Juli 1926 sind in sehr vielen Fällen nicht einzeln aufgeführt. Es sei für sie auf meine Zusammenstellung der Chromosomenzahlen in den Tabulae Biologicae (gekennzeichnet im Text durch ein „T. B.“) verwiesen.

Physikalisch-chemische Grundlage der Morphologie

Von

N. K. Koltzoff

Institut für experimentelle Biologie, Moskau

Mit 17 Abbildungen

(Eine Rede, gehalten auf der ersten feierlichen Sitzung des 3. USSR-Kongresses der Zoologie, Anatomie und Histologie zu Leningrad, den 12. Dezember 1927.)

W. Ostwald verglich einmal einzelne Wissenschaften mit den Kontinenten und den Archipeln, welche mitten im Ozean zerstreut

Physikalisch-chemische Grundlage der Morphologie

347

turen dieses Teils oder seine Form bestimmt. Dadurch ist der Organismus einem Kristall ähnlich, deren Eigenschaften in allen Richtungen verschieden sind. Aber die Zahl der Achsen eines Organismus ist ungleich groß im Vergleich mit den Achsen eines Kristalles. Eine physikalisch-chemische Erklärung der Morphe lebendiger Organismen zu geben, heißt sie zu den vektorialen Eigenschaften der Kristalle herüberzuführen.

Die großen Entdeckungen des 19. Jahrhunderts — die Lehre von der Zelle, die Verbreitung auf die Physiologie der Gesezte der Materie- und Energieerhaltung, sowie die Theorie der Evolution haben sehr wenig das Problem der Materie und der Form beeinflusst. Interessant ist die Geschichte der letzten Entdeckungen auf dem Gebiet der Lehre von der Zelle.

Für Schleiden war die Pflanzenzelle eine wirkliche Zelle — ihr Hauptteil schien die Zellmembran zu sein, welche ihr die bestimmte Form eines Ziegelsteins erteilte. Schwann dachte sogar, daß die Zellen aus der Grundsubstanz sich ebenso heraussetzen, wie die Kristalle aus einer gesättigten Lösung. In dieser Zeit schien es, daß der Begriff der Form mit dem Begriff des Stoffes vereinigt würde. Jedoch im Laufe folgender drei Jahrzehnte lenkten die Zytologen ihre Aufmerksamkeit auf andere Bestandteile der Zelle — den Zellkörper und den Zellkern. Es war gewiß ein großer Fortschritt der Wissenschaft. Aber dieser Fortschritt kostete ein neues Auseinandergehen des Problems der Form und des Stoffes. Max Schultze formulierte die Lehre von dem Protoplasma wie von der lebendigen Substanz, Trägerin aller Lebens-eigenschaften. Um diesen Begriff zu begründen, mußte man aus der Zelle alles das wegwerfen, was eine Form hat und ganz zuerst die Membran, welche so deutlich die Gestalt der Pflanzenzelle bedingt. Der Zellkern, dessen große Bedeutung nicht zu bezweifeln ist, war aus dem Begriff des „Protoplasma“ weggelassen.

Besonders die Vertreter der physikalisch-chemischen Richtung wollten bis zu der letzten Zeit nicht zum Begriff des Protoplasmas all die strukturellen Eigentümlichkeiten hinzufügen, die die Morphologen fanden, welche wahrhaftig zuweilen falsch auf die lebendige Zelle das übertragen, was sie auf der toten, verdorbenen sahen. Jacques Loeb für den das Problem der Form wenig Bedeutung hatte, sprach ganz ernst von dem Protoplasma wie von einer „lebendigen Substanz“ und nicht so, wie wir den Ausdruck „Zelle“ brauchen, indem wir seine buchstäbliche Bedeutung ganz vergessen. Chambers denkt, daß wir das echte Protoplasma am besten beobachten können, wenn wir durch das Zentrifugieren die schweren Makrosomen und Mikrosomen sowie die heraufschwimmenden Fetttropfen beseitigen: es bleibt übrig eine str-

Рис. 1. Титул журнала «Biologisches Zentralblatt» и три первые страницы статьи Н.К. Кольцова 1928 г. на немецком языке

позднее, когда ход науки, особенно за рубежом, привел к величайшим открытиям в молекулярной биологии.

Однако для полного выяснения вклада российского исследователя в мировую науку не менее существенно и признание его приоритета на Западе. Как здесь обстоит дело? Прежде всего, важна реакция современников, в первую очередь, выдающихся зарубежных ученых. Среди них, разумеется, наиболее значим отзыв Германа Меллера, лауреата Нобелевской премии, человека, работавшего в СССР в 20- и 30-е годы и хорошо знавшего Н.К. Кольцова, Н.И. Вавилова и других известных российских ученых-генетиков. Так, Г. Меллер в своей Трастовской лекции 1 ноября 1945 года в Англии (опубликована в 1947 г. в Записках Лондонского Королевского общества (Muller H.J. Pilgrim Trust Lecture: The Gene. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences. 1947. Vol. 134. N 7. P. 1–37) высоко ценит работу Н.К. Кольцова о хромосомах у дрозофилы, напечатанную в «Science» (Koltzoff N.K. The structure of the chromosomes in the salivary glands of *Drosophila*. Science, 1934, Vol. 80. P. 312–313), в которой он также развивает свои общетеоретические взгляды.

Другой пример — английский ученый Дж. Холдейн при рецензировании известной книги Э. Шредингера «Что такое жизнь с точки зрения физики» упрекает автора в неупоминании приоритета Кольцова в гипотезе репликации генов (Haldane J.B.S. A physicist looks at genetics. Nature. 1945 Vol. 155. N 3935. P. 375–376).

Способствовал укреплению международного авторитета и некролог памяти учителя, написанный Н.В. Тимофеевым-Ресовским (Timofeeff-Ressovsky N.W. N.K. Koltzoff. Naturwissenschaften. 1941. Jg. 29. N. 27. S. 121–124).

В целом западные ученые по достоинству чтут вклад Н.К. Кольцова в становление молекулярной биологии. Цитируют они немецкую работу 1928 года, но чаще упоминают вышеприведенную статью 1934 года в «Science» (последнюю — еще и потому, что в ней Кольцов предложил схему многонитчатого строения гигантских политенных хромосом в ядрах клеток слюнных желез двукрылых). Цитирование проводится как в статьях, так и в руководствах по генетике и биологии (прежних и нынешних).

Конечно, западный стиль далек от выстраивания последовательных преемственных цепей в познании истины с учетом приоритетов исследователей всего мира, как это принято в отечественной традиции. По этой причине даже такие экстраординарные ученые, как Д.И. Менделеев и М.В. Ломоносов, не удостоились

объективной исторической оценки за границей. В этом ряду можно расположить многих — в их числе великого физика В.В. Петрова, изобретателя радио А.С. Попова и т.д. Пожалуй, лишь И.П. Павлов сумел своим суперавторитетом пробить брешь в инерции мышления западных историографов науки и получить всемирное признание.

Ведь если выстроить по непредвзятому принципу связку поколений: Н.К. Кольцов — Н.В. Тимофеев-Ресовский — Макс Дельбрюк — Джеймс Уотсон, то тогда предсказание Кольцова становится открытием XX столетия, соизмеримым с дарвиновским XIX века. Это даже если не учитывать взрывного эффекта книги Э. Шредингера 1944 г., которая практически целиком основана на кольцовских идеях, трансформированных в статье М. Дельбрюка с соавторами 1935 года. Хорошо известно, что Н.В. Тимофеев-Ресовский, будучи учеником Кольцова, во время пребывания за границей передал его гипотезы М. Дельбрюку, а тот впоследствии курировал Дж. Уотсона. Нельзя сбрасывать со счета и увлечение молодого Уотсона книгой Шредингера (это — опосредованное влияние). Не случайно М. Дельбрюк после получения Нобелевской премии в 1969 г. тут же приехал из Стокгольма в Москву, чтобы поблагодарить своего учителя — Н.В. Тимофеева-Ресовского. А Дж. Уотсон сообщил о своем открытии Дельбрюку одному из первых.

До сих пор на Западе не находится историков науки, которые выстроили бы такую цепь. Вот почему хотя бы на русском языке мы должны отстаивать свой национальный приоритет, где он очевиден и однозначен.

В заключение необходимо указать на то, что было бы некорректным отмечать роль только публикаций 1928 года в возникновении представлений о наследственной молекуле. С исторической точки зрения следует рассмотреть весь цикл кольцовских статей по данному вопросу, отраженный в суммарной авторской сводке в книге «Организация клетки» (1936); в том числе и статью «Наследственные молекулы», которая недавно была воспроизведена в «Избранных трудах» Н.К. Кольцова (М., Наука, 2006, с. 137–167). Возможно, свою роль на Западе сыграла и публикация Н.К. Кольцова 1939 г. на французском языке: Koltzoff N.K. Les molecules hereditaires. Par N.K. Koltzoff. Paris, Hermann, 1939. — 60 p. Ill. (Actualites scientifiques et industrielles N 776. Exposes de genetique (la genetique et les problemes de l'evolution). Publ. sous la dir. de N.K. Koltzoff. II.). О статье в «Science» (1934) уже упоминалось выше.

ЮБИЛЕЙНЫЕ И ЗНАМЕНАТЕЛЬНЫЕ ДАТЫ 2008 ГОДА*

(общий список)

СОБЫТИЯ, ФАКТЫ

1828 — синтез мочевины Ф. Велером — первый искусственный синтез органического вещества.

1838–1839 — создание основ клеточной теории — доказательства клеточного строения растений и животных (Шлейден, 1838; Шванн, 1839).

1858 — 150 лет тезису Вирхова «Каждая клетка — от клетки».

1868 — открытие Ф. Мишером нуклеиновых кислот.

1878 — Листер описал технику изоляции чистых культур бактерий.

1878 — открыт мейоз в животных клетках (В. Флеминг).

1878 — открытие закона постоянства числа хромосом для каждого вида (Т. Бовери, Э. Страсбургер).

1878 — предложен термин «энзим» для наименования ферментов (В. Кюне). Означает «внутри закваски» (дрожжей): от греч. «en» — «в», «внутри» + «zyme» — «закваска».

1883 — открыт фагоцитоз И.И. Мечниковым.

1883 — доказана гаплоидность половых клеток (Э. ван Бенеден).

1883 — Август Вейсман сформулировал теорию непрерывности зародышевой плазмы.

1888 — В. Вальдейером предложен термин «хромосома».

1888 — открытие продольного разделения хромосом — образование веретена и т.д. (В. Флеминг).

1888 — обнаружение мейоза растительных клеток (Э. Страсбургер).

1893 — выделение в Листеровском институте дифтерийного антитоксина.

1893 — открытие нитрифицирующих бактерий (С.Н. Виноградский).

1898 — открыто двойное оплодотворение у цветковых растений (С.Г. Навашин).

1903 — датский ботаник Вильгельм Йогансен предложил слово «ген».

1908 — получена в США первая гибридная кукуруза методом самоопыления.

1908 — Арчибалд Гаррод (Великобритания) впервые выдвинул предположение о связи между генами и ферментами (в 1941 г. это показали Бидл и Тейтем: один ген — один фермент!).

1908 — присуждение Нобелевской премии Паулю Эрлиху и И.И. Мечникову за работы по иммунологии.

1913 — выход в свет книги Уильяма Бэтсона «Проблемы генетики» (англ. яз.).

1913 — А. Стертевант (будучи студентом) в лаборатории Т. Моргана впервые построил карту гена (установил порядок генов в хромосоме).

1913 — усовершенствование Каррелем метода культуры клеток.

1923 — присуждение Нобелевской премии Ф.Г. Бантингу, Дж. Маклеоду за открытие инсулина.

1923 — открытие Бриджесом транслокаций у дрозофилы.

1923 — получен гибрид картофеля (Russet Burbank).

1923 — фотосинтез охарактеризован как окислительно-восстановительная реакция (Т. Тунберг).

* Материал подготовлен О.В. Воробьевой

1923 — дикетопиперазиновая теория строения белков (Н.Д. Зелинский).

1928 — публикация статей Н.К. Кольцова о принципе самоудвоения наследственной молекулы в немецком журнале «*Biologisches Zentralblatt*», Bd. 48, S. 345–369 и журнале «Успехи экспериментальной биологии», Сер. Б, Т. 7, № 1, С. 3–31.

1928 — открытие пенициллина А. Флемингом (публикация об этом в 1929 г.).

1928 — английский микробиолог Ф. Гриффит (1877–1941) установил, что непатогенный штамм пневмококка может превращаться в патогенный с помощью трансформирующего фактора (О.Т. Эйвери в 1944 году показал, что это — ДНК).

1928 — советский генетик, соратник Н.И. Вавилова, Г.Д. Карпеченко (1899–1942 — был расстрелян по несправедливому обвинению) скрестил редьку и капусту, впервые получив плодовой межродовой гибрид. Это — искусственный полиплоид, названный им «*Raphanobrassica*» (от «*Raphanus*» — «редька» и «*Brassica*» — «капуста»).

1933 — первый гибрид маиса в США.

1933 — получение Т.Х. Морганом Нобелевской премии.

1933 — использование электрофореза для разделения белков в растворе (Тизелиус).

1933 — выделены и охарактеризованы ауксины растений (Ф. Кегль).

1938 — появление термина «молекулярная биология». Авторство традиционно приписывают американскому математику Уоррену Виверу (Warren Weaver, 1894–1978). Однако настоящим «крестным отцом» данного термина является британский физик Уильям Эстбюри (William Astbury, 1898–1961, который в 50-х годах дал ему обоснование и толкование (в связи с этим его имя нередко упоминают как изобретателя этого словосочетания, причем еще в 1938 г.).

1943 — С. Лурия и М. Дельбрюк показали, что бактерии содержат спонтанно мутирующие гены (их эксперимент получил название «флуктуационный тест»).

1943 — начало массового промышленного производства пенициллина.

1948–1949 — первая генетическая карта бактериофага (А. Херши, Р. Ротман).

1953 — публикация в «*Nature*» статьи Дж. Уотсона и Ф. Крика о структуре ДНК.

1953 — использование плазмид для переноса генетических маркеров из одной бактерии в другую (У. Хейс).

1953 — 55 лет Нобелевской премии, врученной Хансу Кребсу за открытие цикла лимонной кислоты (совместно с Ф. Липманом).

1958 — создание в США Национальной лаборатории по сохранению и поддержанию коллекций семян сельскохозяйственных культур (Форт Коллинз, штат Колорадо) — The National Seed Storage Laboratory (NSSL).

1958 — 50 лет со времени вручения Нобелевской премии по физиологии и медицине Дж.У. Бидлу и Э.Л. Тейтему за открытия, касающиеся роли генов в специфических биохимических процессах» (половинная премия). Другая половина премии была присуждена Дж. Ледербергу за открытия, касающиеся генетической рекомбинации у бактерий и структуры их генетического аппарата.

1968 — присуждение Нобелевской премии за расшифровку генетического кода М. Ниренбергу, Х.Г. Коране, Р. Холли.

1973 — С. Коэн и Г. Бойер: первый рекомбинантный организм.

1973 — Брюс Эймс разработал метод определения веществ, повреждающих ДНК. «Тест Эймса» ныне широко применяется для идентификации карциногенных веществ.

1978 — Давид Ботштейн с соавт. нашел, что когда фермент рестрикции применяется к ДНК от разных объектов, то получающиеся наборы фрагментов иногда значительно отличаются друг от друга. Это было названо «полиморфизмами длины рестрикционных фрагментов» («restriction-fragment-length polymorphisms» (RFLPs). Данный метод стал широко использоваться в генетических исследованиях.

1978 — ученые из Гарварда использовали генно-инженерный метод для производства инсулина крыс.

1978 — исследователи из Стенфорда успешно трансплантировали ген млекопитающих.

1978 — компания Генентех объявила об успешном лабораторном синтезе человеческого инсулина с помощью технологии рекомбинантной ДНК.

1983 — присуждение Нобелевской премии Барбаре МакКлинток за открытие транспозирующих (мобильных) генетических систем. Причем, эти данные были получены в ее классических экспериментах на кукурузе более трех десятилетий назад.

1983 — 25-летие открытия полимеразной цепной реакции (ПЦР) Кэри Мюллисом (фирма «Cetus»), который за это был удостоен Нобелевской премии (1993).

1983 — корпорация Синтех получила разрешение FDA на использование основанного на моноклональных антителах диагностического теста на *Chlamydia trachomatis*.

1983 — выделение вируса СПИДа в нескольких лабораториях США и Европы.

1983 — синтезирована первая искусственная хромосома.

1983 — группы ученых из разных лабораторий (Гент, Лейден, Сент-Луис, Кембридж) использовали *Agrobacterium tumefaciens* для введения бактериальных генов в растения.

1983 — Hall получил генно-модифицированный подсолнечник, содержащий ген фасоли.

1983 — в лаборатории получен трансгенный табак.

1983 — впервые выращено целое растение (петуния) с помощью биотехнологических методов.

1983 — создание метода конструкции фрагментов ДНК длиной от 5 до 75 пар оснований (М. Carruthers, Колорадский университет). Затем была разработана автоматическая установка (совместно с L. Hood из Калифорнийского технологического института).

1988 — Grierson D. and Schuch W. сообщили об антисмысловом торможении экспрессии гена в генно-модифицированном растении.

1988 — присуждение Нобелевской премии Дж.У. Блэку (род. в 1924 г.), Г.Б. Элайон (1918–1999), Дж.Х. Хитчингсу (1905–1998) за открытия, касающиеся принципов лекарственной терапии. Этими специалистами были разработаны такие известные препараты, как бета-блокаторы пропранолол и пропранолол, а также б-меркаптопурин, аллопуринол, ацикловир.

1988 — выделение Конгрессом США средств для финансирования проекта «Геном человека».

1988 — основан Национальный центр биотехнологической информации (National Center for Biotechnology Information — NCBI). Центр является частью Национальной медицинской библиотеки США и отделом Национальных институтов здоровья. Он располагается в Бетесде, штат Мериленд. В нем имеется банк генетических данных и собрание книг, доступных on-line, по различным вопросам молекулярной биологии, биотехнологии и других дисциплин.

1988 — получен рекомбинантный химозин для производства сыров.

1988 — получен патент Ф. Ледером и Т. Стюартом на первое животное, созданное с помощью генной инженерии: трансгенную мышь с повышенной частотой возникновения опухолей. Это вызвало споры («Гарвардская онкомышь»).

1988 — присвоение Институту молекулярной биологии АН СССР (ныне — РАН) имени академика В.А. Энгельгардта.

1993 — 15 лет присуждения Нобелевской премии по физиологии и медицине Р. Дж. Робертсу и Ф.А. Шарпу за открытие прерывистой структуры (расщепленности) генов. Генетическая информация в геноме эукариот размещена в виде сегментов — экзонов, разделенных интронами — «ненужными» участками ДНК. Такая организация после удаления интронов перед транскрипцией позволяет осуществлять сплайсинг — сращивание экзонов в единую последовательность.

1993 — Нобелевская премия по химии Кэри Мюллису за изобретение ПЦР.

1993 — создана Ассоциация биотехнологической промышленности («The Biotechnology Industry Organization»).

1993 — создан Национальный центр биотехнологии Республики Казахстан.

1998 — 10 лет со времени вручения Нобелевской премии по физиологии и медицине Р.Ф. Фурчготту, Ф. Мюраду и Л.Дж. Игнарро за открытия, касающиеся окиси азота (NO) как сигнальной молекулы в сердечно-сосудистой системе.

1998 — создана карта человеческого генома (более 30 тыс. генов) и установлены последовательности 7% генома.

1998 — расшифрован геном червя *Caenorhabditis elegans*. Первая публикация в «Science» в декабре 1998 г. Полное завершение проекта — в 2002 году.

2003 — забита овца Долли из-за прогрессирующего заболевания легких (впервые клонированное в 1997 г. животное).

ПЕРСОНАЛИИ

205 лет со дня рождения и 135 лет со дня смерти Юстуса Либиха (1803–1873), великого немецкого химика.

160 лет со дня рождения Хуго де Фриза (1848–1935), голландского ботаника. В 1900 году вторично открыл законы Менделя (вместе с Корренсом и Чермаком).

155 лет со дня рождения Карла Косселя (1853–1927), первого Нобелевского лауреата в области биохимии (1910). Нашел, что пиримидины входят в состав нуклеиновых кислот.

150 лет со дня рождения голландского врача Х. Эйкмана (1858–1930). Изучал причину возникновения болезни бери-бери. Нобелевская премия 1929 г. (совместно с Хопкинсом) за открытие витаминов.

145 лет со дня рождения В.И. Вернадского (1863–1945), отечественного ученого-энциклопедиста, автора теории ноосферы.

135 лет со дня рождения Ханса фон Эйлер-Хельпина (1873–1964), шведского биохимика, иностранного члена АН СССР. Нобелевская премия по химии 1929 года за работы по ферментации сахаров и эти исследования ферментов, участвующих в этом процессе.

135 лет со дня рождения Ф. д'Эрелля (1873–1949), канадца по происхождению, микробиолога, одного из основателей учения о бактериофагах.

135 лет со дня рождения Алексиса Карреля (1873–1944), лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине 1912 года. Занимался хирургией сосудов и выращиванием культуры органов.

125 лет со дня рождения немецкого биохимика Отто Варбурга (1883–1970), лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине 1931 года за открытие природы и механизма действия дыхательного фермента.

120 лет со дня рождения и 35 лет со дня смерти Э.А. Ваксмана (1888–1973). Родился на территории дореволюционной России, в 1911 г. эмигрировал в США. Открыл стрептомицин, за что был удостоен Нобелевской премии в 1952 году.

115 лет со дня рождения А. Сент-Дьердьи (1893–1986). Уроженец Венгрии, в 1955 г. принял подданство США. Лауреат Нобелевской премии 1937 года за открытия в области процессов биологического окисления, связанные в особенности с изучением витамина С и катализа фумаровой кислоты.

110 лет со дня рождения и 40 лет со дня смерти Х.У. Флори (1898–1968). За открытие пенициллина ему совместно с А. Флемингом и Э. Чейном в 1945 г. была присуждена Нобелевская премия.

110 лет со дня рождения Э.В. Ермольевой (1898–1974), микробиолога и эпидемиолога, создателя антибиотиков, действительного члена АМН СССР.

105 лет со дня рождения шведского биохимика А.Х.Т. Теорелля (1903–1982). Нобелевская премия 1955 г. за открытия, касающиеся природы и способа действия окислительных ферментов.

105 лет со дня рождения американского генетика Дж.У. Бидла (1903–1989). Нобелевская премия 1958 г. по физиологии и медицине (половинная совместно с Э. Тейтемом; вторая половина была присуждена Дж. Ледербергу).

105 лет со дня рождения А.А. Прокофьевой-Бельговской (1903–1984), известного отечественного цитогенетика.

100 лет со дня рождения американского биохимика Алфреда Херши (1908–1997), автора одного из ключевых экспериментов в молекулярной биологии (1952). Нобелевская премия по физиологии и медицине 1969 г. (вместе с М. Дельбрюком и С. Лурия).

100 лет со дня рождения М.М. Шемякина (1908–1970), крупного химика-органика, академика АН СССР. Основатель Института химии природных соединений АН СССР (1959), впоследствии переименованного в Институт биоорганической химии (ныне носит его имя и имя Ю.А. Овчинникова).

90 лет со дня рождения Фредерика Сенгера (родился 13 августа 1918 г.), выдающегося английского биохимика. Единственный в мире ныне здравствующий дважды Нобелевский лауреат по химии (4-й за всю историю премий): 1958 г. — за исследование структуры белков, прежде всего инсулина; 1980 г. — половинная премия вместе с У. Гилбертом за вклад в определение последовательности оснований в нуклеиновых кислотах (другая половина была вручена Полу Бергу за рекомбинантную ДНК).

90 лет со дня рождения американского генетика Эдварда Льюиса (1918–2004), лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине 1995 г. (совместно с К. Нюсслайн-Волхард и Э. Вишаусом) за исследования генетического контроля раннего эмбрионального развития.

90 лет со дня рождения Эдвина Кребса (род. в 1918 г.). Нобелевская премия 1992 г. (совместно с Эдмондом Фишером) за открытие обратимого фосфорилирования белков — не путать с Хансом Кребсом, первооткрывателем одноименного цикла (трикарбоновых кислот).

90 лет со дня рождения Артура Корнберга (1918–2007), выдающегося американского биохимика, лауреата Нобелевской премии 1959 г. (совместно с С. Очоа) за исследования механизма биосинтеза РНК и ДНК.

85 лет со дня рождения Д.К. Гайдузека (род. в 1923 г.), лауреата Нобелевской премии по физиологии и медицине 1976 г. (совместно с Б. Бламбергом) за открытия новых механизмов происхождения и распространения инфекционных заболеваний.

85 лет со дня рождения А.А. Воробьева (1923–2006), микробиолога, академика РАН. Был президентом Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова с 2003 по 2006 гг.

80 лет со дня рождения Дж. Уотсона (род. в 1928 г.), автора (вместе с Ф. Криком) феноменального открытия в молекулярной биологии (открытия XX века) — двойной спирали ДНК. Нобелевский лауреат 1962 г. (совместно с Ф. Криком и М. Уилкинсом).

80 лет со дня рождения Даниела Натанса (1928–1999). Нобелевская премия 1978 г. за открытие ферментов рестрикции (совместно с В. Арбером и Г. Смитом).

70 лет со дня рождения американского биохимика Дэвида Балтимора (род. в 1938 г.), Нобелевского лауреата по физиологии и медицине 1975 г. (совместно с Р. Дульбекко и Х.М. Теминым) за открытия, касающиеся взаимодействия между онкогенными вирусами и генетическим материалом клетки.

65 лет со дня рождения Ричарда Дж. Робертса (род. в 1943 г. в Дерби, Англия), лауреата Нобелевской премии 1993 г. (совместно с Ф.А. Шарпом) за открытие прерывистой структуры (расщепленности) генов.

65 лет со дня рождения британского биохимика Ричарда Тимоти Ханта (род. в 1943 г. в Нестоне, Чешир). Нобелевская премия 2001 г. (совместно с Л. Хартвеллом и П. Нерсом) за открытие регуляции клеточного цикла эукариот циклином и циклин-зависимыми киназами. На долю Ханта выпало открытие белков — циклинов, приводящих в активное состояние киназы (CDK — cyclin dependent kinase, циклин-зависимая киназа).

25 лет со дня смерти бельгийского биолога Альбера Клода (1899–1983), лауреата Нобелевской премии 1974 г. (вместе с Дж. Паладе и К. де Дювом) за открытия, касающиеся структурной и функциональной организации клетки.

20 лет со дня смерти (17 февраля) Ю.А. Овчинникова (1934–1988), крупного отечественного молекулярного биолога, академика, вице-президента АН СССР.

15 лет со дня смерти Северо Очоа (1905–1993), испанца по происхождению, известного энзимолога, лауреата Нобелевской премии 1959 г. (совместно с А. Корнбергом).

15 лет со дня смерти американского биохимика Роберта Холли (1922–1993), удостоенного Нобелевской премии в 1968 г. за расшифровку генетического кода (совместно с М. Ниренбергом и Х.Г. Кораной).

10 лет со дня смерти американского биохимика Мартина Родбелла (1925–1998). Нобелевская премия 1994 г. (совместно с А. Гилманом) за открытие белков-посредников (G-белков).

СОБЫТИЯ ПЕРВОЙ ПОЛОВИНЫ 2008 ГОДА

4 января 2008 года исполнилось 55 лет со дня рождения доктора биологических наук, профессора Раифа Гаяновича Василова, президента Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова. Редколлегия сердечно поздравляет его с юбилейной датой и желает дальнейших творческих успехов.

25 января 2008 года в «Российской газете» (№ 15 [4572], стр. 4) опубликована статья «И накормит, и вылечит». Ее авторы — О.В. Морозов, первый заместитель Председателя Государственной Думы Федерального Собрания РФ, председатель попечительского совета Общества биотехнологов России, и Р.Г. Василов, президент Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова. В статье обсуждаются вопросы подъема отечественной биотехнологии как перспективного направления развития экономики страны. Полный текст статьи — на сайте www.ig.ru

6 февраля 2008 года исполнилось 80 лет со дня рождения Юрия Николаевича Вавилова, доктора физико-математических наук, сотрудника Физического института им. П.Н. Лебедева РАН, исследователя жизни и творчества своего великого отца — Николая Ивановича Вавилова. Он является автором публикации в нашем журнале (2007, Т. 3, № 4, с. 65–69). В связи с этой датой состоялось чествование юбиляра на заседании Комиссии по разработке и сохранению научного наследия академика Н.И. Вавилова РАН, а также в его институте (ФИАНе). Редколлегия присоединяется к этим поздравлениям.

12–16 марта 2008 года в Москве состоялся Московский международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития». В рамках данного мероприятия прошла Международная конференция «Биотехнология. Вода и пищевые продукты» и 6-я Международная специализированная выставка «Мир биотехнологии-2008».

17 марта 2008 года состоялось 64-е Баховское чтение. С докладом выступил д.б.н. В.В. Климов «Фотосинтетическое окисление воды».

ПУБЛИКАЦИИ

Kornberg A. Germ stories. — University Science Books. 1st ed., 2007. — 70 p.

Резюме. Посмертно вышедшая книга выдающегося американского биохимика Артура Корнберга, адресованная детям. Это — рассказанные ученым 50 лет назад домашние сказки его троим сыновьям на тему жизни микробов. Они представляют собой увлекательные поэмы о том, как микробы помогают и вредят человеку. Издание иллюстрировано акварелями художника Adam Alaniz, снабжено электронно-микроскопическими фотографиями и глоссарием для тех, кто хочет глубже войти в микробиологию. Книга предназначена для детей 4–8 лет.

Кодекс Алиментариус. Пищевые продукты, полученные методом современной биотехнологии. — М.: Весь Мир, 2007.

Аннотация. «Codex Alimentarius» (лат. «Продовольственный кодекс») — свод принятых международным сообществом стандартов на пищевые продукты. Данное издание содержит принципы анализа рисков, связанных с пищевыми продуктами, полученными методом современной биотехнологии, и руководящие положения по оценке безопасности пищевых продуктов на основе растений и микроорганизмов, полученных с использованием метода рекомбинантной ДНК, принятые Комиссией Кодекс Алиментариус в 2003 году. Издание адресовано широкому кругу специалистов, а также всем заинтересованным лицам.

Сазыкин Ю.О., Орехов С.Н., Чакалева И.И. Биотехнология. — М.: Академия, 2007. — 256 с. (OZON.ru — 2-е изд., стер.).

Аннотация. В учебнике для вузов рассмотрены объекты биотехнологии, способы их создания и совершенствования методами клеточной и генетической инженерии, возможности интенсификации биотехнологического производства методами инженерной энзимологии. Особое внимание уделено проблемам скрининга

биотехнологических препаратов на основе данных геномики, протеомики и биоинформатики, перспективам сочетания методов биосинтеза и органического синтеза при создании новых лекарственных средств. Даны сведения о промышленном производстве аминокислот, стероидов, антибиотиков, иммунобиопрепаратов, ферментов медицинского происхождения и других биотехнологических препаратов. Приведен краткий терминологический словарь. Для студентов высших фармацевтических учебных заведений. Книга вышла в серии «Высшее профессиональное образование».

Никульников В.С., Кретьнин В.К. Биотехнология в животноводстве. — М.: Колос, 2007. — 536 с.

Аннотация. В книге изложены сведения по основам животноводства (скотоводство, свиноводство, овцеводство, козоводство, птицеводство, кролиководство, звероводство, пчеловодство, рыбоводство). Подробно рассмотрено влияние микроорганизмов на качество пищевых продуктов (мясо и мясные продукты, молоко и молочные продукты, продукты пчеловодства и рыбопродукты). Охарактеризованы пищевые отравления, а также инфекционные болезни, передающиеся человеку при употреблении вышеуказанных продуктов. Представлены основы промышленной гигиены и санитарии на предприятиях по переработке сырья и продуктов животного происхождения, а также организация микробиологического контроля производства продуктов. Дано понятие о пробиотиках и механизме их действия. Учебное пособие предназначено для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальности «Зоотехния», а также для зооинженеров, технологов, специалистов, работающих в отрасли производства и переработки животноводческой продукции. Книга издана в серии «Учебники и учебные пособия для студентов высших учебных заведений».

Неверова О.А., Гореликова Г.А., Позняковский В.М. Пищевая биотехнология продуктов из сырья растительного происхождения. — Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2007. — 415 с.

Аннотация. Учебник отражает современное состояние пищевой биотехнологии как важнейшего приоритетного направления науки XXI века и содержит базовые сведения для данной научной дисциплины. Авторами впервые систематизированы биотехно-

логические основы переработки растительного сырья (технология ферментативной и микробной биоконверсии). Представлены сведения о способах создания генетически модифицированных источников пищи и законодательном регулировании их применения. Подробно охарактеризованы биотехнологические процессы отдельных наиболее значимых пищевых производств — хлебопечения, пивоварения, производства спирта и др. Включен материал по использованию в производстве продуктов питания нетрадиционных видов пищевого сырья, ферментных препаратов, других компонентов, полученных методами биотехнологии. Учебник предназначен для студентов, обучающихся по специальности «Пищевая биотехнология», другим технологическим специальностям вузов пищевой и перерабатывающей промышленности, аспирантов и инженерно-технических работников. Рекомендовано УМО по образованию в области технологии сырья и продуктов животного происхождения в качестве учебника для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению 240900 «Биотехнология», специальности 240902 «Пищевая биотехнология».

Заикина Н.А., Коваленко А.Е., Галынкин В.А., Дьяков Ю.Т., Тищенко А.Д. Основы биотехнологии высших грибов. — СПб.: Проспект науки, 2007. — 336 с.

Аннотация. Книга содержит современные сведения о макромицетах — грибах, образующих крупные плодовые тела, их строении, размножении и экологии, питательной ценности и лечебных свойствах, способах культивирования полезных видов. В ней даны подробные описания грибов, используемых как в народной медицине, так и для приготовления лекарственных препаратов и пищевых добавок. Книга адресована не только специалистам-технологам по выращиванию пищевых грибов, но и широкому кругу читателей, а также студентам вузов.

Биотехнология. Под ред. Т.С. Воронина. — СПб.: ГИОРД, 2008. — 704 с.

Аннотация. Учебник написан в соответствии с программой курса, утвержденной УМО вузов РФ по образованию в области зоотехнии и ветеринарии. Предусматривает изучение таких разделов, как биосистемы, объекты и методы биотехнологии; субстраты и продукты биотехнологических систем;

генетически модифицированные клетки и организмы; технологические стадии производства биопрепаратов; автоматизированный контроль и управление биотехнологическими процессами; санитарные и экологические требования к производству биопрепаратов и др. Учебник предназначен для подготовки студентов, обучающихся по сельскохозяйственным, педагогическим специальностям и магистерским программам.

Скурко Е.В. *Генно-инженерные биотехнологии: Вопросы правового и экономического регулирования.* — М.: Ось-89, 2007. — 176 с.

Аннотация. Книга знакомит с основными характеристиками собственно генно-инженерных биотехнологий, а также с актуальными проблемами, существующими в связи с правовым регулированием, экономическими и торговыми аспектами. Книга адресована широкому читателю.

Избранные труды / Н.К. Кольцов; [сост. Т.Л. Маршак, Н.Д. Озернюк; отв. ред. Н.Д. Озернюк]; Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН. — М.: Наука, 2006. — 295 с.: ил. — (Памятники отечественной науки. XX век).

Аннотация. В монографии представлены основные труды выдающегося отечественного биолога, основателя экспериментальной биологии в России, и комментарии к ним ведущих ученых. Изложены результаты экспериментальных исследований, а также идеи и предсказания Н.К. Кольцова, нашедшие блистательное развитие в работах его учеников и последователей и предопределившие последующие крупнейшие достижения в молекулярной и клеточной биологии. Даны статьи учеников Н.К. Кольцова, посвященные его 100-летию юбилею.

Егорова Т.А., Клунова С.М., Живухина Е.А. *Основы биотехнологии. 4-е изд., стер.* — М., 2008. — 208 с.

Аннотация. В книге изложены и обобщены традиционные и новейшие технологии, основанные на достижениях биохимии, молекулярной и клеточной биологии, рассмотрены социально-экономические проблемы и перспективы развития биотехнологии в третьем тысячелетии. Для студентов высших педагогических учебных заведений, обучающихся по специальности

«Биология». Допущено УМО по специальностям педагогического образования.

Богерук А.К. *Биотехнологии в аквакультуре: теория и практика.* — М.: Росинформагротех, 2006. — 232 с.

Аннотация. В книге 8 глав. В издании впервые в рыбохозяйственной практике приведены теоретические подходы к оценке научно-технических разработок в аквакультуре, описаны методы экономической работы на рыбноводном предприятии. Охарактеризованы рыбноводные технологии, исходя из уровня интенсификации и воздействия естественного и искусственного отборов. Проведена дифференциация производственных процессов при разведении и выращивании карпа, радужной форели и осетра с учетом особенностей технологии выращивания каждого вида, технического и ресурсного обеспечения, организационно-экономических способов управления. Книга предназначена для руководителей и специалистов рыбноводных хозяйств, ученых и управленческих работников, студентов и аспирантов, а также для всех специалистов, интересующихся современными методами управления технологическими процессами в агропромышленном производстве.

Handbook of Pharmaceutical Biotechnology (Pharmaceutical Development Series). Sh.C. Gad (ed.). 1st ed. — Wiley-Interscience, 2007. — 1680 p.

Резюме. Объемистое руководство по данной проблеме (в нем 50 глав, написанных разными специалистами). Дан обзор биотехнологических методов, применяемых при создании лекарственных препаратов на всех стадиях — от разработки до производства. Несмотря на широту тематики книга адресована главным образом фармацевтам-исследователям, токсикологам, биохимикам, молекулярным биологам, клеточным биологам, иммунологам, а также биотехнологам-практикам, менеджерам и другим специалистам, занятым в биоиндустрии.

Agrobacterium. From biology to biotechnology. T. Tzfira, V. Citovsky (ed.). — Springer. 1st ed., 2008. — 720 p.

Резюме. Редакторами издания являются известные специалисты США. В книге содержится большой

объем сведений о *Agrobacterium* как удобном объекте для изучения генетической трансформации. Приведена информация об истории вопроса, основных открытиях в этой области, практическом применении, значении для человека. Освещен аспект, связанный с правовыми и этическими проблемами, возникающими при осуществлении генетической трансформации. Дан большой материал по использованию агробактерий для генно-инженерных исследований на растительных и нерастительных организмах.

Аронова Е.А. Иммунитет. Теория, философия и эксперимент: Очерки из истории иммунологии XX века. — Издательство КомКнига, 2006. — 160 с.

Аннотация. Книга посвящена истории становления современной иммунологии. Автор детально и поновому рассматривает эволюцию взглядов на сущность иммуногенеза в XX веке, обращаясь к таким ранее почти не обсуждавшимся темам, как роль теоретически нагруженных метафор и аналогий в формировании понятийного аппарата иммунологии (раздел I), связь между дискуссиями в современной философии и возрождением «ламаркистских» интерпретаций в иммунологии в 1970–1980-е гг. (раздел II), специфика распространения клонально-селекционного подхода в России и Франции (приложение). В первом разделе монографии анализируются представления об иммуногенезе с начала XX века до 1960-х гг. Показано, что переход к селективным «дарвиновским» моделям иммуногенеза в 1960-е гг. отражал сближение иммунологии не столько с эволюционной биологией, сколько с молекулярной биологией, произошедшее в результате массового обращения молекулярных биологов и генетиков к проблемам иммунологии и постепенного вытеснения иммунохимиков с ведущих позиций в теоретической иммунологии. В книге анализируются различные стратегии ученых и формы коммуникации нового знания и гибридизации идей, которые привели к «научной революции» в им-

мунологии: от неформальных и строго селективных по отбору участников «семинаров по антителам» (Antibody Workshops) до наиболее консервативной формы научного знания — науки учебника. Во втором разделе на основе детальной реконструкции дискуссии о «ламаркизме» в иммунологии, спровоцированной работами австралийского иммунолога Э. Стила, раскрывается роль философа Карла Поппера в этой дискуссии, а также в биологии 1960–1980-х гг. в целом. Автор показывает, что философия К. Поппера стала новым контекстом для обсуждения проблемы «ламаркизма», возродив на некоторое время интерес биологов к этой казалось бы окончательно изжившей себя доктрине. В книге использованы ранее никогда не публиковавшиеся материалы из архивов Карла Поппера, Лео Сциларда, Джошуа Ледерберга, Жака Моно, Мелвина Кона и других ученых, оставивших заметный след в науке XX века. Для всех интересующихся историей биологии и медицины, а также историей и философией науки.

Межуева Л.В., Иванова А.П., Гунько В.В. Биотехнологические аспекты производства влажных смесей. — Издательство Едиториал УРСС, ЛКИ, 2007. — 152 с.

Аннотация. В настоящем учебном пособии освещены вопросы кормопроизводства, рассмотрены перспективы виброперемешивания. Изложены методы оценки качества смесей разной влажности. Представлены новые технологии и оборудование для создания влажных смесей, а также нетрадиционные виды сырья, показана роль очистки воды в создании биотехнических систем. Учебное пособие предназначено для студентов, магистрантов и бакалавров технических вузов инженерных специальностей, а также преподавателей, аспирантов и исследователей, научных работников и конструкторов, связанных с проблемой технологических объектов в сельском хозяйстве и пищевой отрасли.

ПРЕДСТОЯЩИЕ МЕРОПРИЯТИЯ 2008 ГОДА

КОНФЕРЕНЦИИ, СЪЕЗДЫ

7–9 апреля 2008 года в Мадриде (Испания) будет проходить конференция BIO-Europe Spring 2008. Предыдущее мероприятие состоялось в Милане (Италия) и собрало более 1200 делегатов из более 700 компаний из разных стран. Справки: www.madridspaciosycongresos.com, www.bioeurope.spring.com.

20–24 апреля 2008 года в Москве состоится IX Международный форум «Высокие технологии XXI века». В его рамках будет организована секция «Биотехнология». Общество биотехнологов России по традиции входит в число организаторов форума. Справки: тел: (495) 694-26-31, E-mail: info@hitechno.ru, <http://www.hitechno.ru>.

23–24 апреля 2008 года в Москве состоится Третий Международный конгресс-выставка «Биоэтанол-2008». Справки: www.biotoplivo.ru.

24–25 апреля 2008 года в Москве будет проходить Первый Международный конгресс и выставка «ЕвразияБИО-2008». Справки: www.biorosinfo.ru.

5–7 мая 2008 года в Барселоне (Испания) состоится Euro-Biotech Forum. Справки на сайте: www.eurotechforum.com. E-mail: ariley@windhover.com.

11–15 мая 2008 года в г. Новосибирске состоится IV съезд Российского общества биохимиков и молекулярных биологов. Организаторы съезда: Российское общество биохимиков и молекулярных биологов, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН при поддержке РАН, FEBS, Президиума СО РАН. Справки: <http://www.biochem2008.ru/>.

17–20 июня 2008 года в Сан-Диего (Калифорния, США) состоится конгресс биотехнологов «BIO 2008 International Convention». Это — широкомасштаб-

ное глобальное мероприятие в области биотехнологии. Справки: <http://www.bio2008.org/>.

2–3 июля 2008 года в Калининграде будет проходить Третья Международная конференция «Пищевая и морская биотехнология». Справки: www.biorosinfo.ru.

12–17 июля 2008 года в Берлине (Германия) состоится XX Международный генетический конгресс. Справки: <http://www.geneticsberlin2008.com/icg2008/start.html>.

9–10 сентября 2008 года в г. Анапа пройдет Четвертая научно-практическая конференция «Актуальные проблемы медицинской биотехнологии». Справки: www.biorosinfo.ru.

15–17 сентября 2008 года в Казани состоится Вторая международная научно-практическая конференция «Постгеномная эра в биологии и проблемы биотехнологии». Справки: www.biorosinfo.ru.

21–25 октября 2008 года в Новосибирске будет проходить Российско-французская конференция «Проблемы и перспективы биотехнологии растений». Организатор — Институт цитологии и генетики СО РАН при поддержке Французского Посольства в Москве, Научного совета по биотехнологии РАН, ВОГИС и других организаций. Справки: факс: (383) 333-12-78. E-mail: salina@bionet.nsc.ru.

7–8 октября 2008 года в Ганновере (Германия) состоится 16-я Международная ярмарка BIOTECHNICA-2008. Справки: <http://www.biotechnica.de>.

Ноябрь 2008 года — в Москве состоится Третий Международный конгресс «Биодизель-2008». Справки: www.biotoplivo.ru.

Декабрь 2008 года — в Москве пройдет Пятый съезд Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова. Справки: www.biorosinfo.ru.

1. Рукописи статей и других материалов представляются в редакцию на бумажном носителе (формат А4) или в электронном виде (на дискете или по электронной почте с обязательным уведомлением).
2. Текст набирается в Microsoft Word, шрифт — Times New Roman, размер шрифта — 12, межстрочный интервал — полуторный. Размещение на листе формата А4 со стандартными полями. Кроме текста статьи, добавляются сведения об авторе (ах): Ф.И.О., место работы, должность, научные степень и звание, адреса для переписки и электронной связи, номера факсов и телефонов). Необходимо сопроводительное письмо из учреждения.
3. Объем рукописи: оригинальные статьи — не более 12–14 стр. (в среднем 22000 знаков без пробела), не более 25 цитированных авторов; обзоры — не более 20–24 стр. (в среднем 40000 знаков без пробела), список литературы — не более 50 авторов. Требования к композиции рукописи: 1) оригинальные статьи — УДК, название, автор (ы), место работы, резюме на русском и английском языках, ключевые слова, введение, материалы и методы, результаты, обсуждение, заключение (выводы), литература, список сокращений; 2) краткие сообщения и обзоры строятся в виде сплошного текста, без вышеуказанных рубрикаций, со списком литературы, но без резюме; 3) остальные материалы (письма в редакцию, хроникальные сообщения, рецензии и т.д.) представляются в произвольной форме.
4. Требования к оформлению содержания рукописи (таблицы, графики, формулы, фотографии, рисунки и др.). Рисунки прилагаются отдельно к тексту рукописи в бумажном и электронном виде в формате TIF или JPEG. Таблицы помещаются по ходу 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 29.03.08
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. Ежегодно проводится Съезд Общества биотехнологов России.

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

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

ОБР является членом Европейской федерации биотехнологии.

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

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

Членство в ОБР является бесплатным для физических лиц.

Контакты: Адрес: 1190171 Москва, Ленинский пр-т, 33

Тел.: +7 (495) 648-09-13

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