

НАУКА **в мире**

Обзор журналов
Nature, PNAS, Science

Номер 10 (1)
25 ноября 2014 г.

Георгий Шульпин о том, как заставить инертные углеводороды вступать в реакцию и почему имена наших ученых вошли в мировые учебники химии

стр. 7

Генетические механизмы поликистозной болезни почек — комментарий Анны Никоновой

стр. 6

У комаров выделен рецептор, который специфически распознает человеческий запах

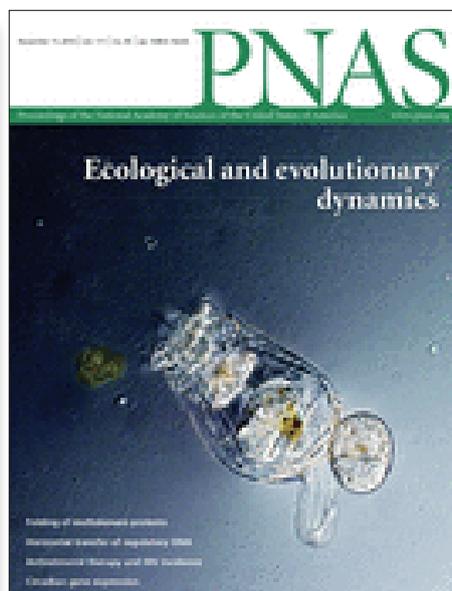
стр. 20

Разработаны микрокапсулы для эффективной борьбы с метастазами в головном мозге

стр. 50

Предложена технология создания полностью металлических фотоэлементов

стр. 52



ЖУРНАЛ «НАУКА В МИРЕ» №10 (1)

25 ноября 2014 года

Издается еженедельно

УЧРЕДИТЕЛЬОбщероссийская общественная организация
«Российская ассоциация содействия науке»

Свидетельство о регистрации СМИ:

Эл № ФС77-59570 от 10 октября 2014 года

**ПРЕДСЕДАТЕЛЬ ПРЕЗИДИУМА RASCH****Евгений Павлович ВЕЛИХОВ,**академик РАН, Почетный секретарь
Общественной палаты РФ,
президент НИЦ «Курчатовский институт»**ПЛЕНУМ RASCH****Виктор Лазаревич АКСЕНОВ,**директор Петербургского института
ядерной физики им. Б.П. Константинова**Жорес Иванович АЛФЕРОВ,**академик РАН, вице-президент РАН,
член Комитета Государственной Думы
по науке и наукоемким технологиям**Лев Яковлевич БОРКИН,**почетный председатель Правления
Санкт-Петербургского союза ученых**Максим Валерьевич ВИКТОРОВ,**первый заместитель председателя
Президиума Российской ассоциации
содействия науке, председатель
Совета Фонда инвестиционных программ**Олег Васильевич ИНШАКОВ,**президент Волгоградского государственного
университета**Александр Николаевич КАНЬШИН,**председатель Совета Национальной ассоциации
объединений офицеров запаса
Вооруженных Сил РФ**Михаил Валентинович КОВАЛЬЧУК,**член-корреспондент РАН, директор
НИЦ «Курчатовский институт»**Николай Александрович КОЛЧАНОВ,**академик РАН, директор Института
цитологии и генетики СО РАН**Юрий Николаевич КУЛЬЧИН,**академик РАН, директор Института автоматики
и процессов управления ДВО РАН**Андрей Викторович ЛОГИНОВ,**заместитель руководителя Аппарата
Правительства РФ**Георгий Владимирович МАЙЕР,**Президент Национального исследовательского
Томского государственного университета,
член Совета Российского союза ректоров**Вера Александровна МЫСИНА,**старший научный сотрудник
Института общей генетики РАН**Валерий Александрович ТИШКОВ,**академик РАН, директор Института этнологии
и антропологии им. Н.Н. Миклухо-Маклая РАН**Валерий Александрович ЧЕРЕШНЕВ,**академик РАН, академик РАН,
председатель Комитета Государственной Думы
по науке и наукоемким технологиям,
член Консультативного совета Фонда «Сколково»**ИЗДАТЕЛЬ ЖУРНАЛА**

Медиагруппа «Вся Россия» (ООО «ВР Медиа Групп»)

Генеральный директорСергей Валерьевич КАЛМЫКОВ,
руководитель Комиссии по информационной
политике RASCH**Административный директор**

Светлана Александровна ХОЗИНСКАЯ

РЕДАКЦИЯ**Главный редактор**Денис Сергеевич АНДРЕЮК,
руководитель Аналитической группы RASCH**Заместитель главного редактора**

Евгения Борисовна МАХИЯНОВА

Старшие научные редактора реферативной части:

Вацлав Владимирович ПОЖАРСКИЙ

Николай Викторович КЛЕНОВ

Александр Станиславович ЕЛСАКОВ

Редакторы-референтыБарыкин Е.П., Братцева А.Л., Ветрова Е.В.,
Герасимова О.В., Дедков Г.В., Дотолева К.С.,
Жармухамедов С.К., Колядко В.Н., Корепанов А.П.,
Кутукова Е.А., Лим Д.А., Лупачева Н.В., Марыгин Р.А.,
Моисеев А.В., Мохосоев И.М., Ольховик А.Ю.,
Петрова Н.С., Сварник О.Е., Сидоров Р.П., Суязова П.А.,
Ташкеев А.И., Шандарин И.Н., Шустикова Л.А.,
Якименко А.В., Ястребов С.А.**Выпускающий редактор**

Александр Станиславович ЕЛСАКОВ

Адрес редакции (для переписки):

105066, г. Москва, ул. Спартаковская, 11-1.

e-mail: naukvmire@allrussia.ru

сайт RASCH: russian-science.com

Информационная продукция для детей,
достигших возраста двенадцати лет.© ООО «ВР Медиа Групп». Все права защищены.
Любое использование материалов допускается
только с письменного разрешения редакции.

Читайте в этом номере:

Информационное поле

4 От редакции

Самое интересное в рефератах

Топ-10 статей текущего номера

5 Новости

Инновации: смена лидера

К 2020 году Китай станет ведущей мировой державой в области НИОКР, обойдя США, Европу и Японию

«Горячие вдовы» Вселенной

Российские астрофизики выдвинули гипотезу о существовании нового класса звездных объектов — быстровращающихся горячих неаккрецирующих нейтронных звезд



6 Комментарий эксперта

Почки и реснички

Как нарушение работы белка, нужного клеткам для деления, может привести к необходимости трансплантации почки

7 От первого лица

Химия Шилова по Шульпину

Активация насыщенных углеводородов комплексами металлов — одна из редких областей науки, в которых российский приоритет не оспаривается практически никем



Nature · PNAS · Science: рефераты статей

11 Естественные и точные науки

Физика и астрономия **11**
Химические науки **13**
Биологические науки **14**
Науки о Земле и смежные экологические науки **32**

34 Медицинские науки и общественное здравоохранение

Фундаментальная медицина **34**
Клиническая медицина **46**

48 Техника и технологии

Электротехника, электронная техника, информационные технологии **48**
Энергетика и рациональное природо-пользование **49**
Медицинские технологии **50**
Механика и машиностроение **51**
Нанотехнологии **52**
Промышленные биотехнологии **54**
Технологии материалов **55**
Химические технологии **58**

59 Социальные науки

Психологические науки **59**
Социальная и экономическая география **60**

Самое интересное в рефератах

Топ-10 статей текущего номера

- 1. Фотоэлемент из золота.** Способность полупроводниковых материалов превращать световую энергию в электрическую разность потенциалов широко используют в электронике, например в фотоэлементах — датчиках света. В работе предложена технология создания полностью металлических фотоэлементов. Разность потенциала возникает в массиве металлических наноструктур при облучении светом с частотой вблизи плазмонного резонанса. *Реферат на с. 52.*
- 2. Промискуитет против «детоубийства».** В работе исследовали 260 видов млекопитающих с целью понять эволюционные причины инфантицида — убийства самцами не своих детенышей. Оказалось, что «детоубийство» возникает и исчезает в эволюции различных социальных видов по схожему сценарию. При обострении конкуренции между самцами устанавливается монополия немногих самцов на спаривание. Доминирующие самцы уничтожают потомство соперников. Адаптационная контрстратегия самок приводит к распространению промискуитета. Это «размывает» атрибуты отцовства и детоубийства прекращаются. *С. 15.*
- 3. Гели в микрокапсулах.** Свойства полимерных растворов радикально меняются при фазовом переходе золь-гель. В работе предложили технологию изготовления микрокапсул с многокомпонентным двухфазным (золь-гель) содержимым. *С. 50.*
- 4. Почему они нас кусают?** Изучены два близких вида комаров, обитающих на одной территории. Одни кусают преимущественно людей, вторые предпочитают животных. Выделен ген рецептора, который специфичен к определенным компонентам человеческого запаха и помогает комарам первого вида находить и кусать именно людей. *С. 20.*
- 5. Депрессия, стресс и иммунитет.** В работе показали прямую причинно-следственную связь между реакцией организма на социальный стресс и состоянием периферической иммунной системы. При увеличении уровня стресса в крови мышей повышается уровень интерлейкина 6, который вызывает тревожность и депрессию. Удаление ИЛ-6 приводит к коррекции социального поведения. По реакции выделенных лейкоцитов можно предсказать степень чувствительности животного к социальному стрессу. *С. 41.*
- 6. Вода на электроде.** В зоне контакта раствора с электродом формируется двойной электрический слой, параметры которого в значительной мере определяют протекание электрохимических реакций. В работе исследовали структуру двойного электрического слоя при контакте воды с золотым электродом. *С. 48.*
- 7. Белки в эмбриогенезе.** В работе количественно проанализировали изменения в составе белков при переходе от зрелой яйцеклетки к развитию зародыша. Это открывает возможность реконструировать первые этапы формирования нового организма «с точностью до молекулы». *С. 23.*
- 8. Нано-пресс-форма.** Разработан подход, позволяющий выращивать наночастицы металлов заданной формы. Из ДНК конструируют наноразмерный «сосуд», полость которого в точности соответствует желаемой форме наночастицы. Металл восстанавливается из раствора и заполняет собой выделенное пространство. Кубики, призмы, диски с характерными размерами 20 нм получаются с выходом до 40%. *С. 52.*
- 9. Бессознательные решения.** Значительная часть информации, которую человек воспринимает, минует сознание. В работе показали, что неосознаваемая информация помогает принимать правильные решения, хотя сам человек не подозревает об этом. *С. 59.*
- 10. Инстинкты и запахи.** В работе изучили, какие отделы мозга отвечают за инстинктивную (врожденную) реакцию на некоторые запахи. Мыши, у которых в исследуемые нейроны встроили светочувствительные ионные каналы, в ответ на свет демонстрировали те же реакции, что и в ответ на запах. *С. 36.*

Инновации: смена лидера

К 2020 году Китай станет ведущей мировой державой в области НИОКР, обойдя США, Европу и Японию

Международная Организация экономического сотрудничества и развития (ОЭСР) представила новый двухгодичный отчет, в котором проводится широкий анализ состояния научно-исследовательской сферы мировой экономики, а также собраны точные статистические данные по НИОКР и названы возможные сценарии дальнейшего развития. Отчет OECD Science, Technology and Industry Outlook 2014 подробно изучила редакция журнала Nature.

Предыдущие прогнозы, согласно которым к 2022 году КНР станет крупнейшим по расходам на НИОКР государством в мире, оказались слишком осторожными. Судя по содержащимся в отчете ОЭСР цифрам, это может произойти еще до 2020 года. Уже сегодня по уровню капиталовложений в НИОКР относительно размеров экономики Китай обошел страны Европейского союза. В 2013 году страна израсходовала на эти цели 2% ВВП — против 1,9% в государствах — членах ЕС. Впрочем, по замечанию главы экспертной группы Доминика Гёлека, «уровень китайской науки по-прежнему остается ниже среднемирового», и пока большинство финансовых вливаний в НИОКР Китая направляется на развитие исследовательской инфраструктуры.

В целом доля ведущих западных держав в общемировых расходах на научно-исследовательскую деятельность продолжает снижаться. При этом вклад стран БРИКС растет: суммарные расходы на НИОКР в них уже превышают расходы Японии и сравнялись с показателями Евросоюза.

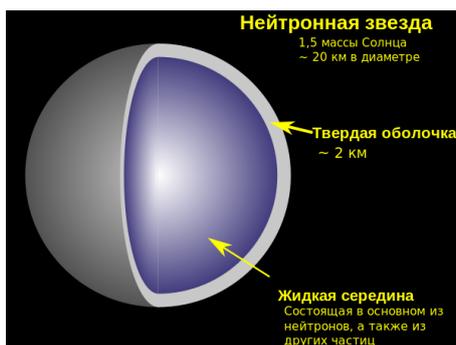
По данным отчета ОЭСР, Россия заметно отличается от остальных стран по структуре расходов на науку и технологии: практически во всех секторах — и в образовании и в фундаментальных исследованиях и в разработках кор-

«Горячие вдовы» Вселенной

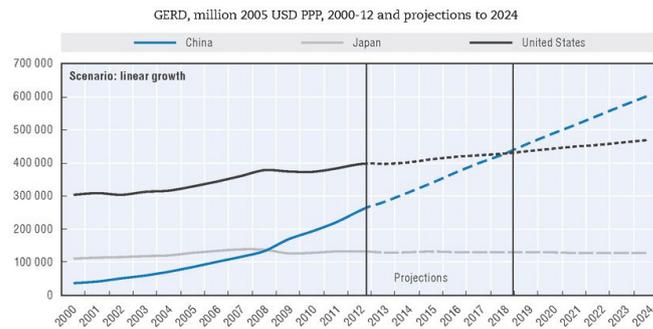
Российские астрофизики выдвинули гипотезу о новом классе нейтронных звезд и предложили назвать их «горячими вдовами»

Одним из конечных продуктов эволюции крупных звезд являются нейтронные звезды (НЗ), состоящие из чрезвычайно плотной вырожденной материи. При радиусе порядка десятков километров масса их может достигать массы Солнца. Многие из них также обладают необычайно высокой скоростью вращения и мощным магнитным полем. Все это делает НЗ одними из самых интересных, разнообразных и важных объектов астрофизических исследований. В одной из таких работ, сообщение о которой опубликовано журналом Monthly Notices of the Royal Astronomical Society, петербургские ученые Андрей Иоффе, Михаил Гусakov и Елена Кантор высказали идею о существовании ранее неизвестного класса НЗ — быстровращающихся горячих неаккрецирующих нейтронных звезд (hot and fast non-accreting rotators, HOFNARs). Авторы статьи

предлагают называть такие НЗ «горячими вдовами» — по аналогии с «черными вдовами», нейтронными звездами-пульсарами в системах с медленно разрушающейся второй звездой. По расчетам астрофизиков, HOFNAR может возникнуть в маломассивной рентгеновской двойной системе, если в завершающий период аккреции веще-

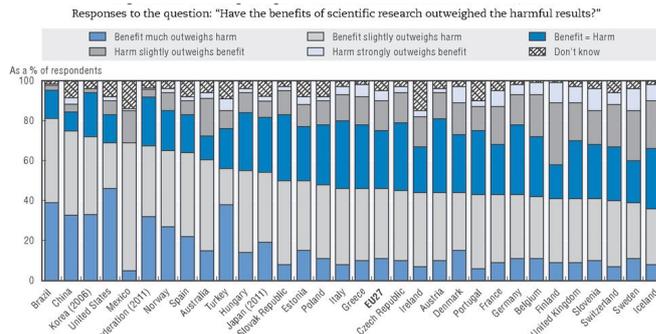


Структура нейтронной звезды. Иллюстрация: Wikimedia.



Note: Trends are projected on the basis of US, Japanese and Chinese GERD data from 2000.

Динамика общих затрат на НИОКР Китая, США и Японии с прогнозом до 2024 года.



Результаты опросов общественного мнения об относительной пользе и вреде научных разработок. Источник диаграмм: Доклад OECD «Science, Technology and Industry Outlook 2014».

пораций — Российская Федерация лидирует по доле прямых государственных вложений. Кроме этого, наша страна по-прежнему сохраняет передовые позиции по критерию восприятия науки и технологий широкими слоями ответственности, а также по доле взрослого населения с высшим образованием.

Публикация: China predicted to outspend the US on science by 2020. Barbara Casassus. Nature News. doi:10.1038/nature.2014.16329

ства от звезды-компаньона на НЗ она окажется неустойчивой относительно г-мод, связанных с излучением системой гравитационных волн. Такие «горячие вдовы» отличаются высокой температурой, энергией на поддержание которой поставляют не аккреция материи на НЗ, а диссипация г-мод — именно это позволяет выделить их в особый класс нейтронных звезд.

Петербургские ученые оценили наблюдательные свойства HOFNAR, а также предложили критерии, по которым их можно обнаружить. Они показали, что с этими требованиями согласуются свойства известных рентгеновских источников 47 Tuc X5 и X7. Если гипотеза о существовании HOFNAR окажется верна, это послужит еще одним подтверждением возможности излучения гравитационных волн массивными, двигающимися с переменным ускорением объектами, которое вытекает из Общей теории относительности.

Публикация: New possible class of neutron stars: hot and fast non-accreting rotators. A. Chugunov, et al. MNRAS. 2014. Vol. 445. Issue 1. P. 385–391.

Почки и реснички

Как нарушение работы белка, нужного клеткам для деления, может привести к необходимости трансплантации почки

Поликистозная болезнь почек (ПБП) – тяжелое наследственное заболевание. Частота его встречаемости варьирует от одного случая на 1000 рожденных детей до одного на 400 – для врожденного заболевания это очень много.

Способа бороться с источником проблемы – мутациями в генах *PKD1* или *PKD2* – пока не существует. Поэтому медики ограничиваются паллиативной терапией, позволяющей несколько облегчить течение болезни. Однако в течение жизни ПБП прогрессирует, в почках растет число кист, а иногда они возникают и в печени, и в поджелудочной железе. Рано или поздно, болезнь обязательно приведет к тяжелой почечной недостаточности. В этом случае больному требуется такая сложная и болезненная процедура как диализ или даже трансплантация донорского органа.

С недавним исследованием, проведенным в лаборатории профессора Эрики Големис из США, появились новые аспекты в понимании причин заболевания и организации паллиативного ухода за больными. Об этом нам рассказал один из авторов работы – Анна Никонова, выпускница кафедры иммунологии Российского государственного медицинского университета имени Н.И. Пирогова.

— Почти 85% случаев ПБП возникают из-за врожденной мутации в гене *PKD1*, кодирующем белок полицистин-1, а 15% — в гене *PKD2*, отвечающем за полицистин-2. Полицистин-1 — это крупный трансмембранный белок, который работает в комплексе с полицистином-2 — каналом, через который в клетку закачиваются ионы кальция. Действовать они могут как на внешней мембране, так и на мембранах эндоплазматического ретикулума внутри клетки.

Серьезным прорывом в понимании причин ПБП стало появление гипотезы о роли первичных ресничек, нарушение работы которых приводит к неправильному развитию клеток почек, и почечный каналец начинает расти, расширяться и вырождается в кисту. По сути он перестает работать, превращаясь в патологический, заполненный жидкостью мешок. Работа органа нарушается.

Одной из задач нашей работы является поиск и тестирование новых препаратов для лечения ПБП. В качестве модельных организмов используются мыши, несущие мутации в гене *PKD1*. Мы сосредоточились на проверке ингибиторов киназ — ферментов, активность которых при этом заболевании патологически повышена, в частности, киназы *Auogo A*. Это — один из трех белков семейства *Auogo*, которые

играют важную роль в процессе митоза — деления клетки.

Основанием для выбора послужила наша работа, опубликованная еще несколько лет назад, где было показано, что именно киназа *Auogo A* (вместе с белком *Nedd9*) регулирует разборку первичной реснички на поверхности клетки. В норме — это обязательный этап подготовки клетки к делению, но при повышенной киназной активности, свойственной для ПБП, на этом этапе может происходить разрушение первичных ресничек и развитие патологии. Вероятно, не случайно, что *Auogo A* экспрессируется в эпителиальных клетках кисты в большей степени, чем в нормальной ткани.

Мы попытались регулировать функцию этих двух белков. Стало интерес-

i СПРАВКА «НАУКИ В МИРЕ»:

Ресничка — органелла, имеющаяся во многих клетках нашего организма, — в эпителии почек играет особую роль механосенсора. Реагируя на изменение потока мочи по каналам, первичная ресничка отклоняется и запускает каскад внутриклеточных сигналов, регулирующих дифференциацию, развитие, рост и функционирование клеток почек.

но, как будет развиваться поликистозная болезнь у модельных организмов при деактивации одного или обоих из этих ключевых генов.

По сравнению с типичной моделью заболевания *Pkd1^{-/-}*, линия мышей с одним лишь выключенным геном белка *Nedd9* никаких видимых проблем с почками не испытывала. Однако когда мы путем скрещивания получили модель заболевания, где были инактивированы оба гена (*Pkd1^{-/-}* и *Nedd9^{-/-}*), мы выяснили, что болезнь протекает намного агрессивнее. Таким образом мы подтвердили важность белка *Nedd9* для развития болезни.

Затем было изучено воздействие лекарств — избирательных ингибиторов активности киназы *Auogo A*. Зная связь повышенной экспрессии киназы *Auogo A* с болезнью, мы ожидали увидеть положительный терапевтический результат. Но эффект оказался неожиданным: после такого лечения поликистоз почек у животных с удаленным геном *Pkd1^{-/-}* лишь усилился. У них, также как и у животных с двойным нокаутом *Pkd1^{-/-}* и *Nedd9^{-/-}*, оказалась нарушена структура первичной реснички. В полном соответствии с этим была резко снижена экспрессия аденилатциклазы III типа — белка, участвующего в передаче сигнала от реснички.

Такие «отрицательные» результаты не менее важны, чем положительные, для разработки правильной терапии. Дело в том, что из-за сходства ПБП во многих аспектах с онкологическими заболеваниями, для лечения ПБП сегодня нередко обращаются к лекарствам, которые были одобрены для противораковой терапии (в том числе и к препаратам — ингибиторам киназ). Но наша работа может послужить серьезным предупреждением — несмотря на внешнее сходство, делать это следует лишь с большой осторожностью, чтобы не нарушить первую заповедь врача — «не навреди».

Публикация: *Nedd9 restrains renal cystogenesis in Pkd1^{-/-} mice*. A. Nikonova, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 35. P. 12859–12864.

Химия Шилова по Шульпину

Активация насыщенных углеводородов комплексами металлов — одна из редких областей науки, в которых российский приоритет не оспаривается практически никем

Насыщенные углеводороды могут стать бесценным ресурсом для получения самых различных полезных соединений. Однако для этого необходимо найти способы преодолеть их высокую инертность, из-за которой соединения можно назвать «благородными газами» органической химии. Шаг за шагом, эта задача решается, — и ключевая заслуга в этом принадлежала отечественной научной школе, прежде всего, школе академика Александра Шилова. Об этом журналу «Наука в мире» рассказал ученик и многолетний соавтор Александра Евгеньевича Шилова доктор химических наук Георгий Борисович Шульпин, ведущий научный сотрудник московского Института химической физики им. Н. Н. Семенова (ИХФ) РАН.

— Георгий Борисович, эту область науки, особенно в американской научной литературе, нередко называют «химией Шилова». Насколько это оправданно?

— Называют, действительно так. Но я не был бы столь категоричен. Наука — это библиотека, и химия активации металлоорганических соединений — даже не одна из книг, а лишь одна из страниц. А в целом — да, это правда: истинная металлокомплексная активация насыщенных углеводородов была открыта в 1969 году в филиале академического Института химической физики в научном центре в Черноголовке.

Это один из несомненных приоритетов отечественной науки, признанных во всем мире. А примеров таких, нужно сказать, не очень уж много. И хотя такие имена, как Марковников, Зайцев, Арбузов, Фаворский, Наметкин, Белосусов и Жаботинский громко звучат со всех страниц западных учебников органической химии и оригинальных научных статей, далеко не всех наших соотечественников вспоминают и цитируют западные ученые. Доходит до анекдотических случаев. Например, вы можете найти в англоязычном учебнике или энциклопедии статью, посвященную реакции Хундикера и выйти по звездочке на примечание: «Реакция Хундикера была открыта русским композитором и химиком А. П. Бородиным». У нас же — слава богу — эта реакция носит название реакции Бородина — Хундикера.

Надо сказать, Александру Евгеньевичу Шилову повезло заметно больше, чем Бородину-химику, и заслуги Шилова в полной мере признаются учеными всех стран. Называется все это по-разному, в зависимости от вкуса цитирующего химика: «реакция», «система» и даже целая «химия Шилова». Родилась эта область, повторюсь, в конце 1960-х годов, когда академик Семенов предложил своему любимому ученику Александру Шилову попытаться «скопировать» в колбе работу ферментов, которые ведут в живых клетках окисление алканов — насыщенных углеводородов. Например, благодаря биологическим катализаторам метан даже при комнатной температуре может превращаться в метиловый спирт. Воспроизведение реакции в таких мягких условиях — задача крайне важная, — вспомните, насколько ценен метанол для химической промышленности.

i СПРАВКА «НАУКИ В МИРЕ»:

Реакция Хундикера (Hunsdiecker reaction), или реакция Бородина, описывает взаимодействие серебряных солей карбоновых кислот с галогенами с образованием органических галогенидов. Исторически впервые проведенная Александром Бородиным (1861), в западной литературе она названа в честь немецких химиков Хайнца Хундикера и его жены Клэр, оптимизировавших процесс в 1942 году — более 80 лет спустя после открытия.

Алканами, или насыщенными углеводородами, называются вещества, состоящие из атомов углерода и водорода, соединенных ординарными связями. В свое время я предложил сравнивать алканы с благородными газами: они чрезвычайно инертны и, подобно гелию или аргону, отнюдь не стремятся реагировать с другими частицами. Само их старинное название «парафины» происходит от латинского «недостаточное средство». Самый «благородный» из всех алканов, конечно же, метан. Его можно сравнить с гелием. «Инертные газы органической химии» устойчивы к действию кислот, щелочей и многих других химически активных агентов. Поэтому, в сравнении с весьма многообразной химией других органических соединений, химия насыщенных углеводородов довольно бедна.

Причина такой инертности алканов лежит в высокой энергии, малой полярности и прочности сигма-связей C—C и C—H. Чтобы стимулировать реакцию, соединения требуют активации — например нагреванием до нескольких сотен градусов или воздействием гамма-лучей. Однако такая активация — ненаправленная и ненадежная: она приводит к возникновению свободных радикалов и протеканию малоселективных реакций. Так, если взять смесь метана и хлора, под действием излучения будет образовываться весь спектр возможных продуктов — CH_3Cl , CH_2Cl_2 , CHCl_3 , CCl_4 .

Вместе с тем, насыщенные углеводороды — настоящее богатство для химического синтеза. Недаром еще Менделеев заметил, что «сжигать нефть — все равно, что топить печку ассигнациями». Поэтому даже почти через столетие после того, как проблема была столь образно сформулирована, уже в 1960-х, вовлечение алканов в каталитические реакции с высокоселективным получением заранее заданного продукта являлось одним из наиболее важных для химии.

— Для решения этой проблемы «ставка» сразу была сделана на комплексы металлов?

— К тому времени уже было известно, что комплексы металлов легко разрывают столь же прочную, как в алканах, сигма-связь в молекуле водорода, присоединяя оба атома водорода и образуя гидридные комплексы. Интересно, что металл при этом, формально говоря, окисляется, хотя и реагирует с соединением, которое мы привыкли рассматривать в качестве восстановителя (вспомните ракетное топливо, в котором водород окисляется кислородом).

СПРАВКА «НАУКИ В МИРЕ»:

Александр Евгеньевич Шилов (1930–2014) — действительный член РАН, ученик Николая Семенова, первооткрыватель нового класса цепных реакций, фиксации молекулярного азота и химии металлокомплексной активации алканов. Долгие годы являлся заместителем директора московского Института химической физики РАН, заведующим лабораторией филиала ИХФ в Черноголовке, директором московского Института биохимической физики РАН. Стал автором более 300 научных работ, в том числе нескольких монографий.

Попытки найти металлокомплексную систему, способную реагировать с алканами, долгое время не давали результата. И лишь в конце 1960 — начале 1970-х годов группе молодых химиков под руководством Александра Шилова (А. А. Штейнман, Н. Ф. Гольдшлегер, В. В. Лаврушко, А. Ф. Шестаков) удалось решить эту задачу. Ими были найдены сразу две реакции.

Первая — реакция замены водорода в метане на дейтерий. Обычно она идет при температуре более 600 °С, но в растворе соли двухвалентной платины в дейтерированной воде или водной уксусной кислоте оказалась возможной при 100 °С. Вторая реакция стала развитием первой. Если в раствор добавить еще и производное четырехвалентной платины, будет происходить окислительно-восстановительный процесс. А поскольку реакция протекает в воде, метан окисляется в метиловый спирт, присоединяя атом кислорода к углероду.

Интересно, что много лет спустя Александр Евгеньевич сказал мне, что он считает такую платиновую систему биомиметической, то есть — по-

вторяющей природу. Я был потрясен и растерян. Посудите сами: в ферментах аналогичную реакцию опосредует железо, а тут — платина. Кроме того, ферменты — это сгустки «нежнейшего» белка, которые работают при комнатной температуре и нормальном давлении, а здесь — 100 градусов, уксусная кислота и метан под давлением...

Однако это действительно был прорыв, который еще требовалось осмыслить. Несколько отвлекаясь и полушутя, могу сказать, что у химии Шилова тогда было больше недостатков, чем достоинств. Действительно, кто будет получать метиловый спирт из метана, окисляя его платиной? Тем более, с таким невысоким выходом продукта?..

Впрочем, достоинства — дело «наживное».

Например, не так давно американские химики из группы Роя Перианы ввели в комплекс платины азотсодержащий лиганд и стали окислять метан не платиной, а серной кислотой. Стоимости окислителя и продукта — уже соизмеримы, а платина — катализатор, ее нужно мало. Появляются рассуждения о возможности промышленного применения. Довольный Периана не стал мудрить и скромно назвал свое изобретение «системой Перианы». Впрочем, история химика-комполитора Бородина тут вряд ли повторится: в своих публикациях Периана — как и многие другие американские химики — признает, что «все мы вышли из Шиловской системы».

— Эти реакции уже достаточно селективны и могут использоваться в производстве?

— Вопрос, конечно, актуальный, но сначала давайте в двух словах опишем само понятие «селективность». И без научных определений ясно, что селективный процесс — не процесс образования непредсказуемой смеси, а избирательно не говорю о смеси химических соединений — ведь может образовываться и одно, но в виде десятка изомеров. Иногда это не важно, но иногда — например при производстве некоторых фармацевтических препаратов — только один из возможных изомерных продуктов может обладать нужными свойствами. Понятно становится, сколь актуально придумать реакцию, дающую селективно только один нужный нам продукт.

Но вернемся к селективности реакций, катализируемых комплексами металлов. На ваш вопрос отвечу так:

в некоторых случаях удастся добиться высокой селективности. Давайте ограничимся случаем так называемой регио-селективности, при которой только один участок — регион молекулы — предпочтительно вступает во взаимодействие с реагентом.

Как повысить реакционную способность одного фрагмента молекулы, например концевых метильных групп в молекулах линейных алканов? На словах просто: снова посмотрим на природные ферменты. Их металлосодержащие реакционные центры находятся в глубине белкового клубка. И если под действием такого фермента превращается цепочка октана, естественно, эта цепочка укладывается в полости фермента. В итоге ближе к железосодержащему реакционному центру оказываются вполне определенные связи C–H, определенные регионы цепочки октана. Поэтому в смеси продуктов будут преобладать соответствующие регио-изомеры.

Работа ферментов отлажена миллиардами лет эволюции. И когда в 1980-х годах Шилов решил заняться проблемой, он стал не то чтобы соревноваться с Природой — он учился у нее, вместе с группой сотрудников создав искусственные модели ферментов, которые при окислении цепочек линейных алканов «отдавали предпочтение» их головным и хвостовым звеньям. В очередной раз Шилов и его коллеги стали пионерами в мировой науке.

Уже сравнительно недавно мы в ИХФ РАН в содружестве с учеными из ИНЭОСа (Институт элементоорганических соединений им. А. Н. Несмеянова — *Ред.*) и Лиссабонского университета вспомнили классические работы шиловцев и создали модели, содержащие по несколько ионов меди в молекуле. С помощью особых комплексов марганца и гетерогенных производных титана мы смогли химически различить на первый взгляд одинаковые углеродные атомы в молекулах линейных алканов. Сотрудничество коснулось уже и химиков Великобритании, Бразилии, Швейцарии, Таиланда... Наука интернациональна, и иной быть не может.

Но вернемся к шиловской «платиновой» химии. У нее есть замечательная особенность: частица металла легче сближается с теми связями C–H, которые менее экранированы другими атомами. Естественно, чем ближе способен ион металла подойти к связи, тем быстрее он будет ее разрывать, а если подобраться на нужное расстояние

не удастся, реакция вообще не состоится. Это снова напоминает о шилловском сравнении платиновых систем с ферментами живых организмов.

Такой же «биомиметикой» стало и последнее увлечение Шилова — тема, над которой он трудился с химиками и биологами из Черногоровки. Эти работы по активации на золотых наночастицах широкого резонанса не вызвали, но можно сказать, что сегодня мы почти детально изучили активацию углеводородов платиной, переходим к исследованию активации на золоте, а на горизонте уже маячат новые «превращения» — с участием наноалмазов.

— Вы перешли от почти классической «платиновой химии Шилова» к «золотой химии» последнего десятилетия и даже заглянули за горизонт, заметив там «алмазы»... Но как развивались платиновые исследования дальше? Были ли получены новые системы для активации алканов?

— Описанная Шиловым реакция почти 10 лет оставалась единственным примером активации алканов с образованием металлоорганических промежуточных соединений. Шилов много ездил по международным конференциям с докладами, читал лекции в разных научных центрах. Многие заграничные ученые были его друзьями. Заметьте: химик Бородин, видимо, гораздо меньше ездил с лекциями по западным университетам. Вот вам и возможная причина признания на Западе одного — и забвения другого...

Впрочем, ни в коем случае не стоит думать, будто это самое признание пришло легко и быстро. В научной среде долго скептически относились к словам Шилова о том, что промежуточными комплексами в системе являются

металлоорганические метилплатиновые производные. А один Нобелевский лауреат даже сказал, что большей чепухи он еще не слыхивал.

Если не брать во внимание грубоватый тон высказывания, по тем временам оценка была вполне разумной. Всем было «совершенно ясно», что в среде водной уксусной кислоты при 100 °С «нежные» металлоорганические соединения существовать не могут. Неудивительно, что человек, делавшие такие «брედовые» утверждения, вызывал подозрения даже у Нобелевских лауреатов. Но Шилов продолжал гнуть свое.

Шилов и Менделеев кажутся мне родственными душами. Оба явно хотели сделать в своей жизни что-то значительное. Оба бросались идеями и задумками направо-налево — и у обоих на сотню новых идей находилось, дай бог, десяток верных. Например, Менделеев, получив сведения об открытии загадочного газа аргона, тут же определил, что это не что иное, как молекула азота, состоящая из трех атомов. И он долго искал неизвестные элементы, располагавшиеся в его таблице между водородом и гелием.

Шилов насмерть стоял за «невозможные» металлоорганические промежуточные соединения. Однако доказать его правоту оказалось непросто. Комплексы с метильным заместителем при ионе платины, получавшиеся из метана, были слишком неустойчивы и в руки не давались. Именно в то время, в конце 1970-х, Шилов и пригласил меня в ИХФ заняться характеристикой и выделением таких органических комплексов платины.

Будучи верным учеником академика Семенова, он предпочитал сразу браться за самое сложное. Я же хотел сначала осмотреться, привыкнуть. По счастью, Александр Евгеньевич никогда не навязывал своим сотрудникам выбор методов, и мы работали достаточно свободно. Фортуна мне улыбнулась: уже в 1979 году я рапортовал о новом, чрезвычайно эффективном методе синтеза ранее не известных ароматических производных четырехвалентной платины с помощью прямой и очень простой

реакции между ароматическим углеводородом (бензолом, толуолом и др.) и H_2PtCl_6 . Реакция в уксусной кислоте (и даже в более агрессивной трифторуксусной кислоте при 90 °С) давала оранжевые кристаллы комплексов, устойчивых на протяжении лет. Этот метод японские и американские химики называли «реакцией Шульпина».

До начала 1980-х годов работа по алкан-платиновой химии и металлоорганической активации углеводородов велась, в основном, лишь силами отечественных ученых — коллективов из ИХФ и его Черногоровского филиала, донецкого Института физической органической химии и углехимии, Новосибирского института катализа. Очень важный вклад в платиновую химию внесли дончане Е. С. Рудаков и его сотрудники В. В. Замашников, С. Л. Литвиненко, С. А. Митченко. Они научились получать метильные комплексы платины встречным синтезом, взаимодействием хлоридов платины с метилиодидом. Такие комплексы оказались достаточно устойчивыми и даже в некоторых случаях были выделены как кристаллы.

Постепенно накапливались новые реакции алканов с комплексами рутения и палладия. Это направление стало привлекать внимание и зарубежных химиков. Да и не только это направление. Как я уже говорил, химия Шилова — одна из страниц толстенной книги, посвященной химии углеводородов. Сегодня в этой области работает множество американских, английских, французских, немецких химиков. Все чаще можно встретить имена россиян. Жаль только, что имена эти зачастую уже связаны с западными университетами.

Так или иначе, но область металлокомплексной функционализации углеводородов бурно развивается. Можно ожидать новых результатов, которые обогатят лабораторную синтетическую химию, и — не исключено — ворвутся в область промышленной переработки основных компонентов нефти и природного газа.

Беседовал Роман Фишман



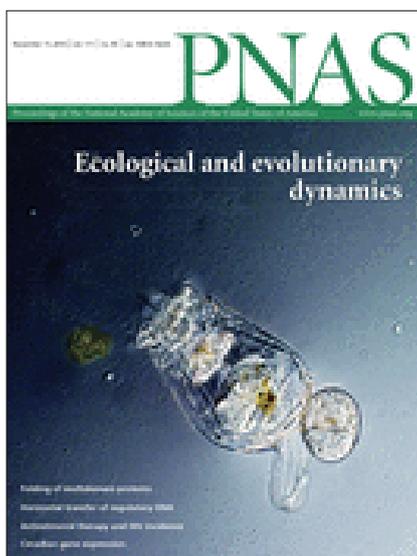
СПРАВКА «НАУКИ В МИРЕ»

Георгий Борисович Шульпин — доктор химических наук, ведущий научный сотрудник Института химической физики (ИХФ) им. Н. Н. Семенова РАН в Москве. Вместе с Александром Шиловым стал одним из первых исследователей металлокомплексной активации углеводородов, изобретателем нескольких систем их фотохимического окисления кислородом и термического окисления пероксидом водорода. Автор более 250 профессиональных публикаций, в том числе 5 монографий.

Vol. 515. No 7526
13 ноября 2014 года



Vol. 111. No 45
11 ноября 2014 года



Vol. 346. No 6211
14 ноября 2014 года



Nature · PNAS · Science: рефераты статей

Естественные и точные науки

- 11** Физика
и астрономия
- 13** Химические
науки
- 14** Биологические
науки
- 32** Науки о Земле
и смежные
экологические
науки

Медицинские науки и общественное здравоохранение

- 34** Фундаментальная
медицина
- 46** Клиническая
медицина

Техника и технологии

- 48** Электротехника,
электронная
техника,
информационные
технологии

- 49** Энергетика
и рациональное
природо-
пользование

- 50** Медицинские
технологии

- 52** Нанотехнологии

- 54** Промышленные
биотехнологии

- 56** Технологии
материалов

- 57** Химические
технологии

Социальные науки

- 59** Психологические
науки

- 60** Социальная
и экономическая
география

Nature · PNAS · Science: рефераты статей

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Физика и астрономия

Тепловая структура экзопланетной атмосферы по данным эмиссионной спектроскопии с фазовым разрешением

Thermal structure of an exoplanet atmosphere from phase-resolved emission spectroscopy. Kevin B. Stevenson, Jean-Michel Désert, Michael R. Line, Jacob L. Bean, et al. Science. 2014. Vol. 346. No 6211. P. 838–841.

Экзопланеты, которые вращаются вблизи своих звезд-хозяек, значительно сильнее освещаются, чем другие планеты в таких системах. Чтобы понять возникновение этих планет и их структуру, необходимо исследовать реакцию атмосферы на экстремально мощное радиационное воздействие звезды. В работе представлены результаты спектроскопических измерений теплового излучения экзопланеты WASP-43 b в зависимости от орбитальной фазы в течение трех оборотов вокруг звезды, полученные на космическом телескопе Хаббл. По эти данным построена карта тепловой структуры атмосферы (яркостной температуры), из которой следуют большие суточные температурные вариации на всех измеренных широтах, и монотонное убывание температуры с изменением давления по долготе. Получена также оценка для альбедо 0,18 (+0,07...–0,12) и широтная зависимость смещения горячего пятна относительно «подзвездной» точки. В прежних наблюдениях суточный контраст и смещение горячего пятна также регистрировались, но наблюдения были ограничены широкополосной фотометрией. Построение спектроскопических фазовых кривых позволяет единым образом идентифицировать источники атмосферной прозрачности, исследовать динамику поглощения, переноса и переизлучения экстремально мощного потока излучения звезды, и получить зависимость температура-давление как функцию орбитальной фазы. Система WASP-43 представляет собой транзитную экзопланету типа «горячего» Юпитера, вращающуюся с периодом 19,5 ч вокруг звезды класса K4. Наблюдения выполнялись в период с 4 ноября по 5 декабря 2013 г. Для наблюдения трех последовательных транзитных прохождений использовалась широкоугольная камера (WFC3) телескопа Хаббл и решетчатая призма G141 в режиме двунаправленного пространственного сканирования в интервале длин волн от 1,1 до 1,7 мкм. В сеансах наблюдений в спектрах выбиралось 15 интервалов с шириной канала 0,035 мкм. Выполнялось также моделирование кривых яркости с помощью моделей транзитных прохождений. В модельных расчетах учитывалось поглощение молекулами H₂O, CH₄, CO, CO₂, NH₃ и H₂S. Было установлено, что только молекулы H₂O заметно влияют на наблюдаемые фазовые кривые, а энергия теплового излучения, получаемая от звезды, плохо перераспределяется в атмосфере. Наблюдения свидетельствуют о наличии выброса (джета) в восточном направлении (в сторону звезды) и области пониженной яркостной температуры в западном направлении. Последний факт является загадочным и не объясняется большинством моделей. Следует также отметить, что измеренное отношение дневной и ночной яркости (более 20 раз) резко контрастирует с умеренным значением этой величины, полученным на космическом телескопе Спитцер.

Г.В. Дедков

Расширяющийся огненный шар новой звезды V339 Del в созвездии Дельфина

The expanding fireball of Nova Delphini 2013. G. H. Schaefer, T. ten Brummelaar, D. R. Gies, C. D. Farrington. Nature. 2014. Vol. 515. No 7526. P. 234–236.

Считается, что вспышка классической новой звезды происходит при аккреции вещества на поверхность белого карлика в тесной двойной системе, результатом которой является термоядерный взрыв. При этом сложные структуры оболочек новых звезд, наблюдаемые на поздних стадиях вспышек, могут быть обусловлены взаимодействием со звездой-компаньоном на стадии сброса оболочки. В альтернативных моделях взрыв является биполярным и происходит локально на поверхности белого карлика, или обусловлен вращательными деформациями. Исследование структуры новых звезд на ранней стадии носит прорывной характер, поскольку для измерения их малых размеров требуется высокое пространственное разрешение. В работе сообщается об исследовании новой звезды V339 Del, открытой в созвездии Дельфина японским астрономом К. Итагаки 14 августа 2013 г. в 14 ч 01 мин гринвичского времени. Наблюдения авторов статьи начались спустя 15 ч после открытия V339 Del (в пределах суток с момента детонации) и продолжались в течение 27 ночей в период с 15 августа по 26 сентября. Измерялся угловой диаметр и интенсивность излучения. Для наблюдений использовалась интерферометрическая система CHARA Array (обсерватория Маунт-Вилсон), состоящая из 6 телескопов с диаметром 1 м, расположенных в конфигурации Y, с длиной базы от 34 до 331 м. При максимальной длине базы и длине волны излучения 1,6 мкм угловое разрешение составляло 0,5". Наблюдения выполнялись в инфракрасной части спектра, используя 2-, 3- и 6-лучевые схемы измерений (CLASSIC, CLIMB, and MIRC). Результаты наблюдений включали нормализованные квадраты амплитуд видимости интерференционных полос и фазы исчезновения интерференционной картины (при комбинации света от трех и более телескопов). До и после каждого наблюдения производилась калибровка системы по звездам с неразрешенным или с известным угловым диаметром. Модельно-независимые изображения V339 Del конструировались с использованием компьютерной программы формирования марковской цепи изображений (MACIM). Измеренная скорость расширения составляла примерно 0,16", а отношение диаметров ядра и внешней оболочки равнялось 1,73. Абсолютная скорость расширения измерялась по доплеровскому сдвигу линий кремния (6347 и 6371 Å) и составляла 613 ± 79 км/с. С учетом угловой скорости расширения расстояние до V339 Del оказывается равным $4,54 \pm 0,59$ кпк. Уже на второй день после вспышки V339 Del обнаружена ее эллиптическая форма с отношением осей 1,13, что согласуется с моделью биполярной вспышки или же связано с тем, что эллиптичность сформировалась на ранней стадии сброса оболочки.

Г.В. Дедков

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Физика и астрономия

Экспериментальная реализация топологической модели Холдейна с ультрахолодными фермионами

Experimental realization of the topological Haldane model with ultracold fermions. Gregor Jotzu, Michael Messer, Rermi Desbuquois, Martin Lebrat, Thomas Uehlinger, Daniel Greif, and Tilman Esslinger. Nature. 2014. Vol. 515. No 7526. P. 237–240.

Модель Холдейна (Haldane) на сотовой решетке представляет собой пример реализации топологически различных фаз вещества, описываемых с помощью модельного гамильтониана. В этой модели квантовый эффект Холла может возникать за счет свойств зонной структуры, а не вследствие приложения внешнего магнитного поля. Хотя физическая реализация модели Холдейна (MX) считалась труднореализуемой, она обеспечивает базис для теоретического и экспериментального изучения топологических диэлектриков и сверхпроводников. В работе сообщается об экспериментальной реализации MX и определении ее топологической зонной структуры, с использованием ультрахолодных фермионных атомов, помещенных в периодически модулированную сотовую решетку, создаваемую дипольными оптическими ловушками лазерных пучков. В такой решетке, сохраняющей симметрии обращения пространства и времени, 2 нижние энергетические зоны соединяются в 2 точках Дирака симметрично по квазиименту. Реализация MX подразумевает нарушение обеих симметрий. Нарушение инверсионной симметрии вызывалось сдвигом энергии соседних узлов

подрешеток. В этом случае образуется тривиальный зонный диэлектрик. Симметрия обращения времени нарушалась введением комплексной туннельной связи с узлами решетки второй координатной сферы. При этом возникает топологический диэлектрик Черна (Chern) с отличной от нуля холловской проводимостью без внешнего магнитного поля. Нарушение симметрии каждого типа приводит к появлению энергетической щели в спектре. При нарушении обеих симметрий топологический фазовый переход соединяет два режима с разным топологическим параметром Черна, изменяющимся от 0 до +1 или от 0 до -1, а энергетическая щель исчезает в одной точке Дирака. В эксперименте создавался ультрахолодный газ невзаимодействующих фермионных атомов 40K, с общим числом от 4×10^4 до 6×10^4 , занимавших нижнюю энергетическую зону сотовой оптической решетки дипольных ловушек, образуемой лазерными пучками с длиной волны $L=1,064$ нм. Две нижних энергетических зоны имели общую ширину 3,9 кГц и энергетическую щель 5,4 кГц до следующей зоны сверху. После загрузки атомов в решетку позиции узлов модулировались с амплитудой $0,087\lambda$, частотой 4 кГц и различной фазой для получения различных траекторий частиц. Исчезновение симметрии и образование щели контролировалось по наличию внутризонных переходов, разрешенных правилами отбора по импульсу. Линия перехода между различными топологическими режимами находилась экспериментально и сравнивалась с результатами расчета в модели Флоке без свободных параметров. В работе предложено обобщение исследованного подхода для изучения спин-зависящих топологических гамильтонианов.

Г.В. Дедков

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Химические науки

Направленное орто-мета'- и мета-мета'-диметаллирование: депротонирование на матрице

Directed ortho-meta'- and meta-meta'-dimetalations: A template base approach to deprotonation. Antonio J. Martinez-Martinez, Alan R. Kennedy, Robert E. Mulvey, Charles T. O'Hara. *Science*. 2014. Vol. 346. No 6211. P. 834–837.

Одна из наиболее широко применяющихся реакций в современном органическом синтезе — реакция металлирования, в результате которой связь углерод — водород переводят в более реакционноспособную связь углерод — металл с использованием металлирующего агента. Реакция металлирования вызывает большой интерес как с фундаментальной, так и с практической точек зрения, так как связь углерод — водород является одной из самых распространенных в природе, а продукты реакции металлирования часто используют в качестве исходных соединений для синтеза сложных органических молекул. Однако большое количество связей углерод — водород в органических соединениях создает и определенные трудности, связанные с обеспечением региоселективности реакции металлирования, т. е. возможностью депротонирования только определенных атомов углерода в молекуле. Одним из подходов к решению данной проблемы в современной органической химии является метод направленного ортометаллирования, заключающийся в том, что направляющая металлиру-

ние группа в ароматическом субстрате активирует замещение в орто-положении. В настоящей работе описан способ проведения реакции металлирования, при котором металлирующий агент образует своего рода матрицу, что позволяет осуществлять реакцию депротонирования региоселективно сразу для двух положений в молекуле ароматического соединения. Основная идея заключается в контроле региоселективности реакции с помощью подбора металлирующего агента, а не направляющей металлирование группы. В качестве металлирующего агента использовали раствор $[\text{Na}_4\text{Mg}_2(2,2,6,6\text{-тетрамethylпиперидид})_6(\text{n-Bu})_2]$ в метилциклогексане, предварительно исследованный несколькими методами ЯМР-спектроскопии. Ароматическими субстратами для проведения реакции выступали соединения, содержащие различные направляющие металлирование группы. Получены продукты, в которых диметаллирование с хорошим выходом происходит в 2,5- или в 3,5-положения. Положение, в котором протекает реакция замещения, определяется как электроноакцепторными свойствами направляющей метилирование группы, так и стерическим эффектом. Так, пространственное расположение указанной группы может обеспечить диметаллирование в мета-положения, что нарушает существующую концепцию о протекании металлирования в орто-положении. Однако определяющую роль все же играет структура металлирующего агента, выполняющего роль матрицы. Предложенный в работе подход может быть использован для проведения различных региоселективных реакций металлирования.

Т.В. Панова

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Определение ниши мезенхимальных предшественников с разрешением в одну клетку

Defining a mesenchymal progenitor niche at single-cell resolution. Maya E. Kumar, et al. Science. 2014. Vol. 346. No 14. P. 1258810-1–1258810-9.

Большинство органов позвоночных состоит из эпителия, окруженного поддерживающими и стромальными тканями, которые формируются мезенхимальными клетками (МК). В последнее время МК служат предметом активного исследования, поскольку они участвуют в образовании опухолей и в развитии других серьезных заболеваний, таких как астма и фиброз различных органов и тканей. Считается, что МК являются высокопролиферативными и активно мигрирующими мультипотентными клетками, и не имеют организованных пулов предшественников. Однако из-за отсутствия подходящих методов до сих пор не удавалось дополнительно изучить судьбу МК в процессе развития организма. Чтобы решить этот вопрос, авторы данной работы использовали мечение клонов предшественников МК разноцветными репортерами (с помощью Cre-рекомбинации) и охарактеризовали их поведение в развивающемся легком мыши. Клональный анализ легочных МК, а также эксперименты по микротрансплантации позволили выявить, что мезенхимальные недифференцированные клетки-предшественники (МНКП) гладкой мускулатуры дыхательных путей (ГМДП) образуют динамичные локальные пулы на кончиках ветвей дыхательных путей (КВДП) и рост этих пулов скоординирован с ростом и ветвлением бронхов. По мере развития дыхательных путей клетки-предшественники удлиняются, приобретают серповидную форму и ориентируются вокруг ветвей бронхов. Затем они дифференцируются и образуют сократимые кольца гладкой мускулатуры вокруг бронхов на протяжении всего дыхательного пути. Тем не менее, клетки-предшественники, находящиеся не на кончике бронхов, а вдоль них, не способны дифференцироваться в ГМДП, что говорит, о том, что существует механизм, препятствующий их дифференцировке. Чтобы выявить этот механизм авторы трансплантировали МНКП, расположенные вдоль бронхов на ткани кончиков бронхов, куда была также помещена бусина, пропитанная Wnt-морфогеном. Такой подход позволил доказать, что именно Wnt-сигнал обеспечивает дифференцировку МНКП в ГМДП и поддержание пула МНКП на кончиках бронхов. Дальнейшие исследования показали, что Wnt активирует гены, отвечающие за подвижность, миграцию и сократимость волокон, что и обуславливает эффекты морфогена на МНКП. Гиперэкспрессия Wnt в мезенхимальных клетках, расположенных вдоль бронхов, привела к различным нарушениям развития легких, в частности изменилась ориентация мышечных волокон, которые у мутантных мышей располагались под прямым углом к осям ветвей бронхов, а не параллельно как в контроле. Таким образом, авторы реферируемой работы детально изучили процессы развития легких у мышей и показали, что пул МНКП находится на дистальном конце ветвей дыхательных путей. Данный пул согласованно растет и делится вместе с бронхами и дает начало ГМДП. При этом важную роль в регуляции этого процесса играет Wnt-сигнал.

И.Н. Шандарин

Структурные основы галогенуглеводородного дыхания

Structural basis for organohalide respiration. Martin Bommer, Cindy Kunze, Jochen Fesseler, Torsten Schubert, et al. Science. 2014. Vol. 346. No 6208. P. 455–458.

Анаэробные микроорганизмы используют различные акцепторы электронов в процессе дыхания, такие как нитраты, сульфаты или даже галогенуглеводороды, такие как перхлорэтилен (ПХЭ) и трихлорэтилен (ТХЭ). Последние вещества довольно токсичны и загрязняют окружающую среду, но в процессе микробного галогенуглеводородного дыхания могут преобразовываться в менее ядовитые формы. Такое дыхание на центральном участке цепи восстановления требует наличия восстановительных дегалогеназ (ВД). В отличие от терминальных редуктаз, содержащих в качестве простетической группы гем, а в качестве кофактора флавины, ВД включают в себя две связки Fe/S, а в качестве кофактора им служит корриноид. ВД встречаются у довольно отдаленных друг от друга родов бактерий, относящихся к хлорофлексам, фирмикутам, протеобактериям и даже археям. Чувствительность ВД к кислороду препятствует их полной очистке и изучению биохимических характеристик. Данные о структуре ВД помогут понять, как они развивались, каковы их функции, а также найти их различные субстраты, некоторые из которых существуют в биосфере менее века. Авторы статьи представляют кристаллическую структуру обнаруживаемой у *Sulfurospirillum multivorans* ВД PseA с максимальным разрешением 1,6 Å в свободном состоянии, в присутствии ТХЭ, цис-дихлорэтена (цДХЭ) и йодида, заменяющего уходящий хлорид. Катаболизм *S. multivorans* включает в себя работу множества терминальных редуктаз, кроме того они способны с помощью ВД PseA совмещать восстановительное дехлорирование ПХЭ, ТХЭ или дибромэтана (ДБЭ) для процессов роста. 464 аминокислотных остатка PseA находятся в компактном петлевом α/β -домене. Его можно разделить на N-концевой фрагмент, связующее корриноид ядро, вставочный фрагмент, Fe-S кластер и C-концевой конец. Два протомера в асимметричной куске P41 плотно взаимодействуют и образуют димер с некристаллографической симметрией. Две спирали корриноид-связывающего ядра и одна N-концевого участка одной части димера образуют спиральную связку с такими же частями второй части димера. Эти связки составляют 20% доступной поверхности протомера и поддерживают его компактное состояние и устойчивость. PseA не похож на известные корриноид-зависимые метилтрансферазы или мутазы. Ближайший по гомологии белок — ММАСНС, встречающийся при метил-малоновой ацидурии типа cb1C с гомоцистеинурией. Их структурная гомология ограничивается связывающим корриноид ядром, из чего следует, что скорее всего они произошли от общего V_{12} -связывающего белка. PseA так же содержит два железосерных кластера, короткое расстояние между которыми и между проксимальным Fe-S-участком и Co, связанным с корриновым кольцом, дает возможность для быстрого переноса электронов в мономерном белке. Катализ ВД включает перенос двух электронов и протона одновременно с диссоциацией хлорида от субстрата.

А.И. Ташкеев

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Комплекс Asi контролирует качество белков внутренней ядерной мембраны

Quality control of inner nuclear membrane proteins by the Asi complex. Ombretta Foresti, Victoria Rodriguez-Vaello, Charlotta Funaya, Pedro Carvalho. Science. 2014. Vol. 346. No 6210. P. 751–755.

Неправильно свернутые белки в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР) удаляются системой контроля качества, именуемой ЭПР-ассоциированной деградацией белка (ЭДБ). У *Saccharomyces cerevisiae* в ЭДБ вовлечены два убиквитинлигазных комплекса, Doa10 (отвечает за деградацию белков в цитозоле) и Hrd1 (контролирует качество белков в мембране и люмене ЭПР). Убиквитинконъюгирующий фермент (E2) Ubc7 является составной частью обоих комплексов. До сих пор неизвестно, как происходит деградация неправильно свернутых белков в особом субдомене ЭПР — внутренней ядерной мембране (ВЯМ). Протеомный анализ показал, что концентрация белков Erg11 и Nsg1, которые участвуют в синтезе эргостерина, не менялась в мутантах *doa10Δ* и *hrd1Δ*. В то же время, их содержание в клетках *ubc7Δ* было повышено. Период полураспада модельного гибридного белка Erg11-НА одинаков в контроле и в мутантных клетках *doa10Δ*, *hrd1Δ* и даже в *doa10Δ hrd1Δ*. В клетках *ubc7Δ*, деградация Erg11-НА была замедлена, что говорит о том, что этот E2 может работать с неизвестной убиквитинлигазой (E3). ЭДБ всех известных субстратов, ассоциированных с мембраной, зависит от АТФазы Cdc48. Оказалось, что деградация Erg11-НА также является Cdc48-зависимой. Эти результаты указывают на существование нового, не зависящего от Doa10 и Hrd1, пути ЭДБ. Помимо канонических E3, участвующих в ЭДБ, в ЭПР существует третья интегральная мембранная E3, состоящая из белков Asi1 и Asi3, локализованных на ВЯМ. Ранее было показано, что Asi1 и Asi3 и еще один белок, Asi2, участвуют в репрессии транскрипции генов аминокислотных пермеаз. Авторы показали, что делеция генов *ASI1*, *ASI2* или *ASI3* блокирует деградацию Erg11 и Nsg1. Кроме того, для деградации Erg11 необходима убиквитинлигазная активность Asi1. Таким образом, Asi1, Asi2 и Asi3 вместе с Ubc7 и Cdc48 образуют новый путь ЭДБ, отвечающий за деградацию Erg11 и Nsg1. Чтобы изучить роль этого пути ЭДБ в удалении Erg11 из ВЯМ авторы следили за распределением в клетках гибридного белка Erg11-GFP. Мутация *asi1Δ* приводила к преимущественному накоплению Erg11-GFP в ядерном ЭПР. Вероятно, ЭДБ локализует синтез стерина в определенных субдоменах ЭПР. Манипулируя локализацией белка Sec61-2, структура которого нарушается при температуре 37 °С, авторы показали, что Asi комплекс требуется для избирательного удаления развернутого Sec61-2 из ВЯМ. Очевидно, контроль качества мембранных белков ЭПР разделен в пространстве, и комплекс Asi контролирует состояние белков, локализованных на ВЯМ.

А.П. Корепанов

Эволюция инфантицида у самцов в сообществах млекопитающих

The evolution of infanticide by males in mammalian societies. Dieter Lukas, Elise Huchard. Science. 2014. Vol. 346. No 6211. P. 841–844.

В данном исследовании для определения роли социальной организации популяций и их систем спаривания в эволюции инфантицида был проведен филогенетический анализ 119 видов, способных к инфантициду, и 141 неспособного. Так была выявлена сильная положительная корреляция инфантицида самцов с отсутствием сезонности размножения, критерием которой служил междуродовой период 360–370 дней. Инфантицид наблюдался у 76% видов с несезонным размножением и лишь у 28% видов с сезонным. Также он коррелировал с длительной лактацией (с поправкой на эмбриональное развитие) и отсутствием послеродовой течки, то есть признаками, влияющими на скорость восстановления половой активности самки после родов. Впрочем, это справедливо только для животных с несезонным размножением. Лактация более продолжительна, чем эмбриональное развитие, у 25 из 45 видов с инфантицидом и у 38 из 39 видов, не способных к нему. Другие признаки (продолжительность жизни, численность потомства, вес новорожденного) не коррелировали с инфантицидом. Таким образом, единственным фактором инфантицида, зависящим от самки, является ее способность давать потомство с определенной частотой. Предположительно, умерщвляя потомство от других самцов, животные стремятся ускорить возобновление половой активности самки после родов и появление собственного потомства от этой самки. Проведенное сравнение социальных систем показало, что инфантицид более распространен в стабильно смешанных популяциях, чем в популяциях, образованных особями одного пола, или с постоянным партнерством. В среднем, в популяциях с инфантицидом на 1 самца приходится 2,5 самки, без инфантицида — 1,3 самки. По данным филогенетического анализа, наибольшее смещение соотношения полов в сторону самок наблюдалось непосредственно перед возникновением инфантицида. Это соотношение слабо изменялось после появления инфантицида. Он в наибольшей степени развит в популяциях, в которых в размножении участвует лишь меньшинство самцов. При инфантициде 67% потомства группы производится альфа-самцом, в его отсутствие — лишь 35%. При инфантициде эти самцы меньше время сохраняют свою доминирующую позицию, чем в его отсутствие. Он не провоцирует развитие социальных противостратегий, таких как объединение самок для защиты детенышей, постоянное сожительство определенных самца и самки или изменение численности групп и соотношения полов. Однако ему эффективно препятствуют беспорядочные половые сношения самок, усложняющие родственные связи в популяции. Эффективность этой стратегии подтверждается увеличением размера яиц после эволюционного перехода к инфантициду и дальнейшей вторичной утратой инфантицида у видов с увеличенными яйчками. Полученные результаты позволяют предположить, что инфантицид млекопитающих, скорее всего, является следствием, а не причиной различий в устройстве популяций.

А.Л. Братцева

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Молекулярный регулятор определяет длину структурного повтора в жгутиках и ресничках эукариотов

A molecular ruler determines the repeat length in eukaryotic cilia and flagella. Toshiyuki Oda, et al. Science. 2014. Vol. 346. No 6211. P. 857–860.

Жгутики и реснички являются клеточными органеллами, обеспечивающими подвижность клеток и одноклеточных организмов. Их структура содержит повторяющиеся элементы длиной в 96 нм, и эта длина соблюдается с особой тщательностью. В связи с этим, авторы настоящей работы ранее предположили, что строгий контроль длины структурного повтора стал возможен благодаря существованию строго контролируемого механизма, так называемого «молекулярного регулятора». В настоящей работе авторы исследовали механизм сборки жгутиков и ресничек у хламидомонад (*Chlamydomonas*). При этом основное внимание было уделено изучению двух белков — FAP59 и FAP172. Это было обусловлено тем, что отсутствие этих белков у различных млекопитающих, а также у представителя рыб полосатого данио приводит к нарушению структуры аксонем. Авторы получили мутантные линии *Chlamydomonas*, в которых отсутствовали гены, кодирующие белок FAP172 (линия *pf7*) и белок FAP59 (линии *pf8*, *HA24*, *gam5*). Морфологически мутантные клетки отличались от клеток дикого типа наличием коротких неподвижных жгутиков. Чтобы изучить дефектные структуры мутантных аксонем, возникшие вследствие отсутствия белков FAP59 и FAP172, авторы использовали метод криоэлектронной томографии. Было показано, что FAP59 и FAP172 в жгутиках хламидомонады образуют комплекс длиной в 96 нм, который обуславливает расположение структурных компонентов (повторов) с периодичностью в 96 нм в дублетных микротрубочках (DMT). Отсутствие этого белкового комплекса приводит к нарушению данной периодичности расположения элементов в структуре аксонем. Более того, удлинение комплекса FAP59/172 при дупликации домена, а также при дупликации специфических компонентов аксонем, вызвало удлинение повторов до величины в 128 нм. Белковый комплекс FAP59/172 может оказывать негативное или позитивное влияние на связывание различных структурных элементов аксонем. Так, было показано, что расположение 24-нанометровых повторов ODA не зависит от присутствия комплекса FAP59/172. Кроме того, комплекс FAP59/172 может рассматриваться в качестве негативного регулятора для RS, так как он заслоняет большинство RS-связывающих участков. В то же время, это комплекс оставляет некоторые «дыры», позволяя связывание RS в определенных участках. Отсутствие комплекса FAP59/172 приводит к потере структурных элементов IDA и N-DRC в мутантной аксонеме, что говорит в пользу того, что комплекс работает как позитивный регулятор и обеспечивает места для заякоривания IDA и N-DRC. Таким образом, результаты, изложенные в настоящей работе, свидетельствуют в пользу того, что белковый комплекс FAP59/172 представляет собой молекулярный регулятор, определяющий длину повторов и расстановку структурных компонентов в жгутиках и ресничках у хламидомонады.

И.М. Мохосоев

Условная иммунологическая толерантность к умеренным фагам обеспечивается за счет системы CRISPR-Cas, эффект которой зависит от транскрипции

Conditional tolerance of temperate phages via transcription-dependent CRISPR-Cas targeting. Gregory W. Goldberg, Wenyan Jiang, David Bikard, Luciano A. Marraffini. Nature. 2014. Vol. 514. No 7524. P. 633–637.

Прокариотические иммунные системы CRISPR-Cas защищают клетки от вирусов (фагов). Для этого, РНК, полученная в результате транскрипции т. н. локуса CRISPR, расщепляется эндонуклеазой Cas. Полученная короткая РНК (сrРНК) специфична к определенным сайтам вирусного генома, являющимся мишенью для его расщепления. Известно, что системы CRISPR-Cas типов I-E и II-A борются как с лизогенией, так и с литической инфекцией. В данной статье исследуется механизм, благодаря которому система типа III *Staphylococcus epidermis* предотвращает литическую инфекцию, но допускает лизогению умеренными фагами. Для изучения работы системы типа III клетки *Staphylococcus aureus*, которые чувствительны к фагам ФНМ (с1 по 4), трансформировали плазмидой pGG3, несущей систему CRISPR-Cas *S. epidermis* типа III-A. Также в плазмиду pGG3 был добавлен локус (32T), который кодирует сrРНК («спейсер»), комплементарную консервативному локусу фагов ФНМ1, ФНМ2 и ФНМ4. Оказалось, что наличие 32T уменьшает эффективность развития литической инфекции фагами ФНМ1 и ФНМ2 на семь порядков, но не влияет на эффективность лизогенизации фагами ФНМ1 и ФНМ4. Таким образом, CRISPR-Cas система типа III-A блокирует развитие литической инфекции, но не лизогенизацию. Причем, это не связано с инактивацией самой системы либо изменением фагового генома. Помимо 32T, авторы сконструировали спейсеры, специфичные к разным участкам генома ФНМ1. Оказалось, что эффективность спейсера коррелирует с транскрипционной активностью мишени. Так, спейсеры, специфичные к сайтам, расположенным справа от центрального промотора (ЦП) и транскрибируемым только в одном направлении, блокировали образование бляшек только в том случае, если они были комплементарны кодирующей цепи ДНК. Спейсеры, специфичные к мишеням слева от ЦП, которые транскрибируются в обоих направлениях, были эффективны, независимо от цепи ДНК. В целом, лизогения была возможна только в случае спейсеров, мишенями которых были литические гены справа от ЦП, и блокировалась спейсерами, специфичными к генам, которые конститутивно экспрессируются при лизогении. В модельном эксперименте с внедренной в хромосому мишени для двух взаимно комплементарных спейсеров, авторы продемонстрировали, что CRISPR-ответ появляется только при активной транскрипции мишени в присутствии антисмысловой сrРНК, независимо от ориентации мишени. Таким образом, установлено, что транскрипция мишени необходима для ее атаки системой CRISPR-Cas типа III-A, что отличает ее от систем типов I и II.

А.П. Корепанов

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Открытие ParaHox-гена и динамика экспрессии NK-генов у известковых губок

Calcisponges have a ParaHox gene and dynamic expression of dispersed NK homeobox genes. Sofia A. V. Fortunato, et al. Nature. 2014. Vol. 514. No 7524. P. 620–623.

Губки — очень простые животные, имеющие всего несколько типов клеток. Однако в их геноме есть многие гены, служащие регуляторами транскрипции в онтогенезе более сложных животных, в том числе гомеобоксные гены класса Antennapedia (ANTP). У двусторонне-симметричных животных к этому классу относятся генные семейства Hox, ParaHox и NK. У губки *Amphimedon queenslandica*, относящейся к обыкновенным губкам (Demospongia), ни Hox-генов, ни ParaHox-генов не обнаружено, но NK-гены есть; причем они образуют плотный кластер, как у двусторонне-симметричных животных. Была высказана гипотеза, что семейства Hox и ParaHox произошли от семейства NK после расхождения эволюционных линий, ведущих к губкам и к настоящим многоклеточным животным (кишечнополостным, двусторонне-симметричным). С другой стороны, анализ синтении позволил предположить, что отсутствие генов Hox и ParaHox у *Amphimedon* является результатом вторичной потери (гипотеза «гена-призрака», ghost locus). Группа генетиков провела поиск всех гомеобоксных генов класса ANTP в геномах двух представителей известковых губок (Calcarea): *Sycon ciliatum* и *Leucosolenia complicata*. В результате у них были обнаружены ортологи трех NK-генов двусторонне-симметричных животных (*Hox*, *Hmx*, *Msx*), несколько дополнительных NK-генов и один ParaHox-ген (*Cdx*). С другой стороны, у *Sycon*, в отличие от *Amphimedon*, NK-гены не собраны в кластер. Все гены класса ANTP, обнаруженные у *Sycon*, экспрессируются в ходе онтогенеза, влияя на дифференцировку клеток, метаморфоз, становление плана строения. Экспрессия этих генов была подробно описана с помощью гибридизации и РНК *in situ*. Ген *Cdx*, относящийся к семейству ParaHox, экспрессируется во внутренней клеточной массе во время формирования камеры, высланной хоаноцитами. У двусторонне-симметричных животных ParaHox-гены экспрессируются преимущественно в развивающемся кишечнике. Это отлично согласуется с поддерживаемой в последнее время гипотезой, согласно которой хоанодерма губок гомологична энтодерме настоящих многоклеточных животных. Таким образом, теперь можно считать, что ParaHox-гены появились уже у губок или даже у их предков. Гипотеза «гена-призрака» подтверждена. Ранее выделенный таксон ParaHoxozoa, в который губки не входят, теперь, вероятно, придется отвергнуть. Эти данные не оставляют сомнений, что дальнейший анализ геномов губок необходим для любых попыток реконструкции генома общего предка многоклеточных животных. Тем более что причины огромных различий в репертуаре генов класса ANTP между обыкновенными и известковыми губками пока остаются неясными.

С.А. Ястребов

Структурные основы сборки регуляторного комплекса трансляции Sxl–Unr

Structural basis for the assembly of the Sxl–Unr translation regulatory complex. Janosch Hennig, et al. Nature. 2014. Vol. 515. No 7526. P. 287–290.

Генетическое равенство представителей мужского и женского пола обеспечивается компенсационными механизмами на уровне хромосом. У плодовой мушки *Drosophila melanogaster* дозозависимый комплекс способствует двукратной транскрипции одной X-хромосомы у самцов. Этот комплекс неактивен у самок из-за ингибирования трансляции гена *msl2*, который кодирует лимитирующий компонент компенсационного комплекса. Специфичный для самок белок Sxl через РНК-связывающие мотивы (аминокислотные остатки 123–294) связывается с богатыми уридином отрезками нетранслируемых участков (3'UTR и 5' UTR) информационной РНК белка *msl2*. После связывания с мРНК, белок Sxl вступает во взаимодействие с первым доменом холодового шока (CSD1) белка Unr (Upstream of-N-ras) и привлекает его на участок 3'UTR. Образовавшийся белковый комплекс предотвращает связывание мРНК с малой субчастицей рибосомы, что приводит к ингибированию трансляции этой мРНК. Было показано, что CSD1 и Sxl не взаимодействуют друг с другом в отсутствие РНК, что указывает на кооперативный характер связывания. В настоящей работе авторы поставили своей целью определить минимальный участок мРНК, необходимый для связывания с белками Unr и Sxl, и проанализировали образование тройного комплекса с применением мРНК дикого типа и ее различных вариантов. Чтобы выявить факторы, определяющие взаимодействия внутри тройного комплекса Sxl–Unr–RNA, авторы построили модель тройного (1:1:1) рибонуклеинового комплекса Sxl–Unr–*msl2* с разрешением 2,8 Å. Подтвердилось ранее не наблюдавшееся взаимодействие с участием 2 мотивов распознавания мРНК белка Sxl, CSD1, белка Unr и мРНК. Образование комплекса происходит при 1000-кратном возрастании РНК-связывающей активности CSD1-домена белка Unr с участием новых взаимодействий внутри тройного комплекса, образованием необычной структуры, по форме напоминающей тройную молнию, и неканонических контактов, происходящих между РНК и $\alpha 1$ -спиралью первого мотива распознавания мРНК в белке Sxl. На основании полученных в данной работе результатов авторы предположили, что подавление дозозависимого механизма является необходимым условием для выживания самок и этот процесс запускается специфичными кооперативными молекулярными взаимодействиями, которые отключают рибонуклеиновый переключатель в процессе регуляции трансляции. По мнению авторов, полученная в данной работе структура тройного комплекса Unr–Sxl–*msl2* позволяет объяснить такой факт, как уникальное сочетание обычных РНК-связывающих доменов позволяет расширить возможности распознавания молекулы одноцепочечной РНК через образование уникальной пространственной структуры рибонуклеинового комплекса, участвующего в процессе регуляции экспрессии генов.

И.М. Мохосоев

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Гены, регулирующие формирование синапсов, транскрипцию и перестройку хроматина, разрушаются при аутизме

Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism. Silvia De Rubeis et al. Nature. 2014. Vol. 515. No 7526. P. 209–215.

Основными характеристиками расстройств аутистического спектра (ASD) являются нарушения коммуникативных функций и синдром навязчивых действий. Наследственные генетические отклонения, а также вновь возникшие мутации составляют основные факторы риска для развития ASD. Характер генетических отклонений расстройств ASD включает взаимодействие часто встречающихся и редких мутаций, что может влиять на функцию сотен генов. При помощи секвенирования целого экзона (кодирующей части генома, WES) авторами было проанализировано 15480 образцов ДНК от 3871 больных аутизмом и 9937 здоровых родственников. С применением новых статистических методов, позволяющих оценить ассоциацию между аутосомными генами, авторами были обнаружены измененные аллели с частотой <0,1%, в результате мутации которых происходила потеря функции (loss-of-function, LoF), например фреймшифт, нонсенс и мутации донора/акцептора в местах сплайсинга или повреждающие миссенс-мутации (Mis3), обнаруженные при помощи программы PolyPhen-2. Варианты мутаций генов были классифицированы по типу (например, *de novo* или наследованные мутации) и по тяжести (LoF, Mis3), после чего было подсчитано количество вариантов для каждого гена. Варианты мутаций были обнаружены в 22 аутосомных генах при средней доле ложных отклонений гипотез (FDR) <0,05, а также в группе из 107 аутосомных генов, в которой часто встречались гены, составляющие возможные факторы риска ASD (FDR<0,30). Было обнаружено, что у 5% больных аутизмом гены, входящие в последнюю группу (107 генов), подвергались LoF мутациям *de novo*, несмотря на то, что в процессе эволюции эти гены проявляли необычайную устойчивость к мутациям. Было показано, что мутированные гены кодировали белки, вовлеченные в сигнальные пути, регулирующие формирование синапсов, транскрипцию генов и сплайсинг РНК, а также перестройку хроматина. В частности, к таким белкам относятся потенциал-зависимые ионные каналы, отвечающие за распространение потенциала действия, поддержание сердечного ритма и сопряжение нейронной активности с транскрипцией, а также гистон-модифицирующих ферментов и белков, ответственных за перестройку хроматина, в особенности тех, которые участвуют в пост-трансляционном метилировании и деметилировании гистонов. Авторами было отмечено, что целостность функций синапсов является обязательным для нормальной физиологии нервной системы, и нарушения данных функций могут являться точкой пересечения в патогенезе многих нейropsychиатрических заболеваний.

Д.А. Лим

Решение давних загадок гигантского орнитомимозавра *Deinocheirus mirificus*

Resolving the long-standing enigmas of a giant ornithomimosaur *Deinocheirus mirificus*. Yuong-Nam Lee, et al. Nature. 2014. Vol. 515. No 7526. P. 257–268.

Голотип *Deinocheirus mirificus* был составлен в 1965 г. по данным палеонтологической экспедиции в южной части пустыни Гоби в Монголии. Его отличительными чертами являются гигантские передние конечности (длиной 2,4 м) со скапулокоракоидами. Сочетание в голотипе черт, свойственных орнитомимозаврам, и нехарактерных для них затрудняет определение филогенетического статуса *Deinocheirus*. В данном исследовании представлен анализ двух новых образцов ископаемых остатков *Deinocheirus*, обнаруженных в Монголии: в Неметгской формации Алтан-Уула IV в 2006 г. и в местности Бугиин-Тсав в 2009 г. Образец из Бугиин-Тсав содержит левую переднюю конечность, характерную для *Deinocheirus*, на 6% длиннее, чем в голотипе. Образец из Алтан-Уула по длине составляет приблизительно 74% находки из Бугиин-Тсав. Кластический анализ позволяет считать *Deinocheirus* крупнейшей группой орнитомимозавров. Эти животные обладали рядом особенностей скелета. По-видимому, они медленно передвигались и обладали тяжелыми костями, удлинённой мордой, глубокой ротовой полостью, протяженными нервными гребнями, пигостилем, U-образной вилочкой (впервые обнаруженной у орнитомимозавров), расширенным тазом для прочного прикрепления мускулов, сравнительно короткими задними конечностями и когтями с широкими концами на ногах, вероятно, помогавшими удерживаться и не проваливаться во влажный субстрат. Наличие пигостиля может говорить о присутствии у орнитомимозавров на кончике хвоста веера из перьев для привлечения внимания. Уникальная морфология черепа *Deinocheirus* и простое движение челюсти наилучшим образом подходило для питания растениями нижнего яруса или травянистыми водными растениями. Длина черепа отрицательно коррелирует с силой укуса и высотой поедаемых растений. Значительная глубина ротовой полости позволяет предположить наличие массивного языка, участвовавшего в сосании и проглатывании органического материала, добываемого на дне источников и озер. Более тысячи обнаруженных в желудке гастролитов размером 8–87 мм, составляли 0,22% тела по массе. Вероятно, они использовались для перемалывания пищи. Наличие остатков рыбы и растений в желудке позволяет предположить, что *Deinocheirus* были всеядными и обитали в районах с умеренным увлажнением. Возможно, гигантские размеры определили формирование других признаков (длинные нервные гребни, широкие когти на ногах) и служили *Deinocheirus* защитой от хищников неметгской фауны, таких как тарбозавры и другие тероподы. Примечательно, что другие орнитомимозавры обладали значительно меньшими размерами и были способны передвигаться бегом. Филогенетический анализ выявил сестринские отношения *Deinocheirus* и таксона *Garudimimus* внутри группы орнитомимозавров. Также его результаты позволяют предположить, что орнитомимозавры разделились в раннем меловом периоде на две ветви — *Deinocheiridae* и *Ornithomimidae*.

А.Л. Братцева

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Структура большой субъединицы рибосомы митохондрий у млекопитающих

The complete structure of the large subunit of the mammalian mitochondrial ribosome. Basil J. Greber, et al. Nature. 2014. Vol. 515. No 7526. P. 283–286.

Рибосомы митохондрий или миторибосомы представляют собой модифицированные рибосомы бактериального происхождения, специализирующиеся на синтезе и внедрении мембранных митохондриальных белков, необходимых для процесса превращения энергии и образования АТФ в митохондриях. Миторибосомы у млекопитающих образованы 39S- и 28S-субчастицами и в значительной степени отличаются от бактериальных рибосом, от которых, как принято считать, они произошли. В то же время, рибосомы митохондрий клеток млекопитающих также отличаются от рибосом грибов и цитоплазматических рибосом. Ранее авторы определили с разрешением 4,9 Å пространственную структуру 39S-субчастицы миторибосомы свиньи, обладающую высокой гомологией с большой субчастицей рибосомы митохондрий у человека. В настоящей работе авторы представили полноатомную структуру большой 39S-субчастицы рибосомы митохондрий свиньи. Структура оставленной в процессе трансляции миторибосомы была определена с разрешением 3,4 Å с помощью методов криоэлектронной микроскопии и химических сшивок в сочетании с масс-спектрометрией. Результат предоставляет возможность определить расположение и способ укладки 50 белков миторибосом. Было показано, что вход в туннель внутри миторибосом у млекопитающих очень напоминает таковой у бактерий, который рассматривается в качестве мишени для направленного действия макролидных антибиотиков. Однако миторибосомы млекопитающих не связывают макролидные антибиотики. Авторы высказали предположение, что их резистентность к действию макролидных антибиотиков вызвана присутствием гуанинового нуклеотида в положении 1051 в 16S-рРНК это различие. Показано расположение высококонсервативного пептидилтрансферазного активного сайта в комплексе с его субстратом — тРНК и определен маршрут, по которому растущая полипептидная цепь продвигается через туннель внутри миторибосомы у млекопитающих. Более того, авторы представили доказательства того, что митохондриальная тРНК является интегральным компонентом центрального протуберанца в 39S-субчастице, где она заменяет отсутствующую в миторибосомах 5S-рРНК, которая, как правило, присутствует во всех цитоплазматических рибосомах в клетках млекопитающих. В связи с высокой степенью сходства митохондриальных рибосом у человека и свиньи и присутствием гуанина в 105-м положении в 16S-рРНК у человека, авторы высказали предположение, что выявленный в настоящей работе молекулярный механизм может также действовать в миторибосомах у человека. Представленная в настоящей работе структура рибосомы высокого разрешения может быть полезной для проведения экспериментов, которые позволят выявить детали молекулярного механизма функционирования и эволюции митохондриальных рибосом.

И.М. Мохосоев

Вклад мутаций *de novo* кодирующих участков ДНК в развитии расстройств аутистического спектра

The contribution of *de novo* coding mutations to autism spectrum disorder. Ivan Iossifov et al. Nature. 2014. Vol. 515. No 7526. P. 216–221.

Расстройства аутистического спектра (ASD) — группа психопатологических состояний, к которым относятся заболевания, возникающие в раннем детстве и сопровождающиеся нарушениями коммуникативных и языковых функций, а также синдромом навязчивых действий. ASD встречается чаще у представителей мужского пола. Считалось, что эти расстройства обусловлены генетическими мутациями и нарушениями структуры хромосом, которые передаются по наследству. Недавно было обнаружено, что мутации *de novo* (DN) вносят существенный вклад в развитие ASD. Авторами было проведено секвенирование всего экзома у членов более чем 2500 семей, входящих в Simons Simplex Collection (SSC, база данных семей, в которых один из двух детей страдает аутизмом). Путем сравнения экзома больного и здорового сиблинга (брат или сестра) было обнаружено, что 13% DN миссенс-мутаций и 43% DN мутаций, нарушающих кодирующую последовательность (LGD), образуют соответственно 12% и 9% всех диагностированных случаев. Включая нарушения количества копий гена, DN мутации встречались у 30% всех больных из SSC и у 45% больных женского пола. Выборка пробандов с высоким коэффициентом интеллекта (IQ) имела ненормальное распределение с уклоном в сторону мужского пола, поэтому мужская подгруппа была распределена на 2 примерно одинаковые части: с низким и с высоким IQ. Выяснилось, что в выборках больных женщин и больных мужчин с низким IQ наблюдались значительные совпадения генов с мутациями LGD. Подобное совпадение не наблюдалось при сравнении выборок с высоким IQ, что также указывает на отличающееся распределение генетических механизмов, определяющих возникновение ASD у мужчин с высоким IQ. Было оценено, что LGD мутации примерно в 400 генах обнаруживаются в обобщенном классе больных как женского, так и мужского пола с низким IQ, определяя разницу по IQ в мужской выборке в 5 пунктов. Мутированные LGD гены, встречающиеся у данного класса больных, совпадали с опубликованными ранее генами, мутации в которых встречаются при слабоумии и шизофрении. Среди мутированных LGD генов часто встречались гены, отвечающие за перестройку хроматина; гены, регулируемые белком синдрома ломкой X-хромосомы (FMRP) и гены, экспрессируемые в эмбриональном периоде. Авторами было отмечено, что, с точки зрения перспективы лечения, что почти во всех генетических классах мутации DN встречались у пробандов, у которых была сохранена одна нормальная аллель, указывая на возможность облегчения симптоматики путем увеличения активности здоровой аллели.

Д. Лим

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Эволюция привлечения комаров человеком связана с обонятельным рецептором

Evolution of mosquito preference for humans linked to an odorant receptor. Carolyn S. McBride, et al. Nature. 2014. Vol. 515. No 7526. P. 222–236.

«Домашняя» разновидность комара *Aedes aegypti* в процессе эволюции развила специфичность к человеку. Эти комары не кусают других животных и переносят вирусы денге, желтой лихорадки и лихорадки чикунгунья. Помимо «домашней» разновидности существует предковая, «лесная» форма, распространенная на побережье Кении. Эти комары избегают человека. От домашних комаров они отличаются окраской и некоторыми чертами морфологии. В данном исследовании были показаны значительные различия реакций этих разновидностей на запах человека и других животных. Методом ольфактометрии было выявлено явное предпочтение домашних комарами запаха человека и лесными запахами морской свинки. Аналогичные данные были получены с использованием нейлоновых мешков, обладающих запахом того или иного животного и наполненных CO₂, стимулирующим атаку насекомых на хозяев. Результаты подтвердились в сравнении реакций комаров на запах человека и петуха. Для определения причин этих предпочтений исследователи провели РНК-секвенирование генов, экспрессируемых в антеннах — основных органах обоняния. Было отобрано по 3 колонии домашних и лесных комаров. Колонии разных типов скрещивали и сравнивали гибриды F2, которых подразделяли на специфичных к морской свинке и к человеку. В исходных колониях различались уровни экспрессии 959 генов, в F2 — 46 генов, и 14 генов изменяли экспрессию в одном и том же направлении в двух сравнениях. В частности, и в исходных колониях, и в F2 была усилена экспрессия генов *Or4* и *Or103*. Для определения компонента запаха, активирующего *Or4*, были получены дрозофилы, экспрессирующие его ген в гетерозиготе в обонятельном нейроне. Рецептор не реагировал на фракционированные компоненты запаха морской свинки, но эффективно распознавал сулкатон — один из основных компонентов запаха человека. Таким образом, привлечение домашних комаров запахом человека тесно связано с повышенным уровнем экспрессии гена и чувствительностью обонятельного рецептора *Or4*. Вероятно, предпочтение запаха определяется некоторыми аспектами аллель-специфичной функции: в F2 преимущественно наследовались аллели от родителей со сходными предпочтениями. Функциональный анализ аллелей показал, что 5 из них кодируют высокую чувствительность к сулкатону, а 2 — значительно более низкую. Дополнительный анализ данных РНК-секвенирования с учетом уровня экспрессии основных аллелей и их встречаемости показал, что все аллели экспрессируются более интенсивно в организмах F2, ориентированных на человека. Это позволяет предположить существование генетического элемента, не связанного с *Or4* и стимулирующего его экспрессию у организмов с предпочтением к человеку. Также расположение аллелей в порядке интенсивности экспрессии совпадало у 2 типов гибридов F2. Таким образом, связанные с *Or4* элементы, варьирующие среди аллелей, также влияют на экспрессию гена.

А.Л. Братцева

Сигнальный фосфолипид PIP₃ создает новую поверхность взаимодействия на ядерном рецепторе SF-1

The signaling phospholipid PIP3 creates a new interaction surface on the nuclear receptor SF-1. Raymond D. Blind, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 42. P. 15054–15059.

Не так давно было показано, что сигнальные фосфолипиды — фосфоинозитиды (PIP_n) — входят в состав не только плазматической, но и ядерной мембраны. Более того, в ядре были обнаружены ферменты, обеспечивающие метаболизм фосфоинозитидов. Тем не менее, функции PIP_n в ядре изучены слабо. Известно, что фосфоинозитиды являются активирующими лигандами для внутриядерного стероидогенного фактора 1 (SF-1). Как и типичные лиганды SF-1, ацильная часть фосфоинозитидов связывается в гидрофобном кармане лиганд-связывающего домена (LBD) рецептора. Исследование расположения головной полярной группы и механизма активации рецептора при связывании фосфоинозитидов являются основными целями данной работы. Было показано, что наибольшей аффинностью к SF-1 обладают фосфатидилинозитол-3,5 (PIP₂) и фосфатидилинозитол-3,4,5 (PIP₃)-фосфаты. Для дипальмитоил-PIP₂ и -PIP₃ лигандов в связанном с SF-1 состоянии получили кристаллические структуры с разрешением 2,40 Å. Полученные модели позволили установить, что полярная голова фосфоинозитидов экспонирована в раствор. Это уникальный случай для белок/PIP_n взаимодействий. Вблизи входа в лиганд-связывающий карман для SF-1/PIP₃ наблюдали стабилизацию белковой петли между спиралями H2 и H3 (L2-3), что, вероятно, связано с взаимодействием инозитидной группы с рецептором посредством структурирования молекул воды. В таком состоянии L2-3 взаимодействует с L11-12 и переводит спираль H12 лиганд-связывающего домена в более выгодную конформацию, позволяющую связывать транскрипционные корегуляторы в AF-2 сайте рецептора. Таким образом, получает объяснение способность ряда аминокислотных замен в петле L2-3 LBD вызывать серьезные заболевания, связанные с потерей функции SF-1. Ранее авторами статьи было показано, что комплекс SF-1 с PIP₂ менее активен, чем при связывании с PIP₃. Структуры этих комплексов практически идентичны, однако полярные группы фосфоинозитидов повернуты друг относительно друга. Вероятно, другие отличия в структуре комплексов не обнаружены из-за стабилизирующего влияния пептида PGC1-α, использованного в качестве фактора для улучшения кристаллизации. Методом поверхностного плазмонного резонанса определили силу взаимодействия лиганд-связывающего домена SF-1 с PGC1-α. Установили, что в отличие от PIP₂, связывание PIP₃ приводит к усилению взаимодействия пептида с LBD в AF-2 сайте. Таким образом, PIP₃ является не просто структурным компонентом, но высокаффинным регулятором ядерного рецептора SF-1. За счет взаимодействия полярной части фосфоинозитида с водой, PIP₃ стабилизирует структуру белка у входа в лиганд-связывающий карман, создавая при этом поверхность для взаимодействия рецептора с пептидными коактиваторами. Данное исследование позволяет объяснить причину ряда заболеваний, вызываемых аминокислотными заменами в участке взаимодействия SF-1 с PIP₃.

Е.П. Барыкин

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Избирательное аллостерическое связывание в коровых хемотаксических комплексах

Selective allosteric coupling in core chemotaxis signaling complexes. Mingshan Li, Gerald L. Hazelbauer. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 15940–15945.

Бактериальный хемотаксис опосредуется белковыми сигнальными комплексами, чувствительными к градиентам химических веществ и направляет бактерию в благоприятные условия среды с помощью контроля автофосфорилирования гистидинкиназы. Известная кооперативность в передаче и усилении сигнализации бактериального хемотаксиса, как полагают, возникают благодаря аллостерическим взаимодействиям внутри мультикомпонентных мембранных сигнальных комплексов. В данной работе авторы исследовали явление аллостерии в коровых комплексах, собранных с двумя видами хеморецепторов, каждый из которых распознает различный лиганд. Коровые сигнальные комплексы содержат 2 тримера трансмембранных рецепторных димеров, при этом каждый тример связан со сцепляющим белком CheW («адаптор» между рецептором и киназой) и протомером димера киназы. Коровые комплексы собраны в гексамеры, которые образуют гексагональные массивы. Авторы проводили исследования, используя технологию нанодисков, благодаря которой отдельные коровые комплексы могут быть воссозданы *in vitro* как водорастворимые активные единицы. Авторы собрали нанодиски, содержащие аспартат-хеморецептор Tar, серин-хеморецептор Tsr или оба хеморецептора *Escherichia coli*. Изолированные, растворимые коровые сигнальные комплексы содержали один димер киназы CheA, два белка CheW и два тримера хеморецепторных димеров, каждый тример в собственном нанодиске. Авторы показали, что соседние димеры в тримерах рецепторов оказывали влияние на сродство рецептора к лиганду, указывая на существование аллостерического связывания. Однако данное связывание не затрагивало ключевую функцию ингибирования киназной активности. По данным авторов исследования, только один рецепторный димер мог ингибировать киназу, в зависимости от связывания с лигандом. Такое избирательное аллостерическое связывание согласуется с ранее выявленной структурной асимметрией: только один димер в составе тримера рецептора контактирует с киназой и только с одним белком CheW. Авторы предполагают, что один из этих димеров связывается в качестве лиганда с рецептором, чтобы ингибировать киназу. Кроме того, было обнаружено, что протомеры киназы также аллостерически взаимодействуют, передавая ингибирование через димерный интерфейс. Благодаря тому, что димеры киназы соединены с гексамерами коровых комплексов, аллостерическая коммуникация посредством димерного интерфейса обеспечивает путь для распространения запущенного рецептором ингибирования киназы от одного гексамера к другому. Таким образом, данная работа показывает, что кооперативность в передаче и усилении сигнала в системе сенсорного хемотаксиса тесно связаны с явлением аллостерического связывания.

Л.А. Шустикова

p100/IκBΔ секвестрирует и ингибирует NF-κB через образование каппа-B-сом

p100/IκBΔ sequesters and inhibits NF-κB through kappaBsome formation. Zhihua Tao, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 15946–15951.

Сигнальные пути, в которых принимают участие белки семейства факторов транскрипции NF-κB, являются важным внутриклеточным инструментом, позволяющим клеткам выживать в неблагоприятных внешних условиях. NF-κB-опосредованные сигнальные пути участвуют в клеточном ответе на воспаление. Необходимым условием для активации NF-κB-сигнальных путей является деградация белков семейства IκB, способных ингибировать активность определенного набора белков NF-κB. Семейства белков объединяет и то, что 2 представителя белков IκB — p100 и p105 — являются предшественниками 2 белков NF-κB: p52 и p50. Именно вызванное стимулом образование белка p52 из белка p100/IκBδ составляет альтернативный путь активации NF-κB-опосредованного сигнального пути, известного как «неканонический сигнальный путь». Этот процесс должен находиться под строгим контролем для поддержания нормальной клеточной активности. Подавление активности белка p100/IκBδ при сохранении высокого уровня белка p52 вызывает повышение уровня белка NF-κB в ядре и неконтролируемую активацию многих генов, приводящую к нарушению реализации нескольких внутриклеточных программ развития, таких как остеокластогенез, созревание B- и T-лимфоцитов и др. Однако состав комплексов, образуемых белками p100/IκBδ и NF-κB, и механизм ингибирования активности NF-κB до сих пор остаются невыясненными. Ранее авторы настоящей работы показали, что белок p100, как и белок p105, образует большой комплекс неизвестной стехиометрии с белком NF-κB. В настоящей работе авторы использовали метод рентгеноструктурного анализа кристаллов C-концевого домена белка p100/IκBδ и осуществили анализ влияния аминокислотных замен на функцию этого белка. Было показано, что белок p100/IκBδ, в отличие от других белков семейства IκB, вызывает неспецифическое (независимо от субъединиц NF-κB) ингибирование NF-κB в результате образования высокомолекулярных комплексов (IκBδ)₄:(NF-κB)₄ между 4 молекулами белка p100 и 4 мономерами NF-κB, названных авторами «каппа-B-сомами» (kappaBsomes). Эти каппа-B-сомы с расположенными в центре белками IκBδ и по своей структуре отличаются от комплексов типа 2:2, образуемых белком IκBγ. Стабильность тетрамера IκBδ повышается при его связывании с NF-κB, и, следовательно, образование высокомолекулярного комплекса необходимо для ингибирования активности NF-κB. Более того, ослабление тетрамера IκBδ приводит как к нарушению его связывания с субъединицами белка NF-κB, так и к его протеолитической деградации с образованием белка p52. Уникальная способность белка p100/IκBδ взаимодействовать без какого-либо предпочтения со всеми субъединицами белка NF-κB с образованием каппа-B-сом наглядно показывает его роль в секвестировании субъединиц белка NF-κB и их высвобождении при воздействии определенных стимулирующих сигналов.

И.М. Мохосоев

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Сохранение функциональности несмотря на структурные различия в лиганд-зависимых РНК-переключателях

Functional conservation despite structural divergence in ligand-responsive RNA switches. Mark A. Boerneke, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 15952–15957.

РНК-вирусы, в том числе вирус гепатита С человека (HCV), имеют структурные нетранслируемые области генома для связывания с рибосомами клеток хозяина и инициации синтеза вирусных белков. Эти геномные области называются внутренним сайтом входа рибосомы (IRES) и кодируются разными последовательностями РНК у разных вирусов, но при этом имеют общие функциональные мотивы РНК. В данной работе авторы обнаружили у IRES лиганд-зависимые конформационные переключатели. У вируса гепатита С IRES-элемент представляет собой комплекс из 4 независимо сворачивающихся доменов: I, II (a, b), III (a–f), IV. Известно, что домен II обеспечивает стабильное внедрение мРНК вируса в декодирующий канал 40S субъединицы рибосомы. У HCV субдомен IIa сворачивается в L-образный мотив, который представляет собой изгиб под углом 90° в домене II и направляет шпильку IIb к E-сайту рибосомы. Субдомен IIa также является мишенью для ингибиторов вирусной трансляции. По-видимому, субдомен IIa может быть мишенью для лиганда, чье распознавание РНК-мотивом может способствовать освобождению рибосомы из IRES-связанного комплекса. Авторы исследовали потенциальных кандидатов на роль такого лиганда для субдомена IIa и изучили структурную и функциональную стабильность похожих лиганд-зависимых мотивов-переключателей других РНК IRES-элементов. Продемонстрировано, что гуанин связывается с развернутым конформационным участком субдомена IIa. Связывание было специфично для гуанина, как в качестве собственно азотистого основания, так и в составе гуанозина, тогда как другие азотистые основания не показали активности. Гуанин селективно ингибировал экспрессию IRES-зависимого гена-репортера. Обнаружено, что при добавлении Mg^{2+} отмечались признаки сворачивания в изогнутую структуру конструкторов со всеми исследуемыми вирусами (CSFV, BVDV, AEV, SVV, HCV). Структурный анализ субдомена IIa IRES элемента SVV показал, что его РНК принимает изогнутую форму, в результате чего фланкирующие спирали РНК оказываются под углом 90°. Общая структура домена II у SVV практически идентична таковой у HCV, несмотря на различия в последовательности РНК и вторичной структуре. Химерная конструкция из IRES-элементов HCV-SVV была полностью функциональна как *in vitro*, так и в инфицированных клетках. Таким образом, авторы показали, что модульные РНК-мотивы с сильно отличающейся последовательностью и локальной вторичной структурой служат функциональными консервативными переключателями, участвующими в вирусной трансляции и могут связываться с идентичными родственными лигандами. Эти модульные вирусные РНК представляют собой простейшую форму лиганд-зависимого переключателя среди нуклеиновых кислот.

Л.А. Шустикова

Путь сворачивания мультидоменного белка зависит от топологии взаимодействия его доменов

Folding pathway of a multidomain protein depends on its topology of domain connectivity. Takashi Inanami, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 15969–15974.

В последнее время уделяется много внимания исследованию принципов и закономерностей сворачивания белковых молекул. Однако в большинстве случаев рассматриваются белки, состоящие из одного домена. В данной работе авторы рассмотрели, как механизм сворачивания мультидоменных белков зависит от их топологии. Топология белковой конформации или пространственная организация структурных единиц белка и величина среднего расстояния между контактами в последовательности белковой молекулы является ключевым фактором, определяющим механизм фолдинга белковой молекулы. Однако предсказать путь сворачивания для белка, состоящего из нескольких структурных доменов, является непростой задачей. Относительная значимость среди 2^n -конформационных состояний в процессе фолдинга белка с n независимо сворачивающимися доменами должна определяться длиной, структурой, топологией соединяющих линкеров между доменами и взаимодействиями между поверхностями доменов. Однако структурные домены могут сворачиваться похожим образом. В частности, схожесть доменов может иметь важное значение для топологически сложного белка, который имеет домен, состоящий из более чем 2 соприкасающихся частей цепи. Домен, образованный соединением только 2 участков цепи, формирует «островки» упорядоченной структуры и может служить ядром для фолдинга, тогда как домен, образованный более чем 2 участками, уже не является независимой единицей для фолдинга, а зависит от домена первого типа. В работе теоретически проанализирован путь сворачивания белка с доменом, образованным более чем 2 участками цепи. В качестве примера был использован белок дигидрофлатредуктаза (ДФФР) *Escherichia coli*, имеющий домены обоих типов и его циркулярный пермутант, который состоит только из доменов, образованных соединением 2 участков цепи. Авторы разработали модель, основанную на данных о структуре белка, и применили ее для анализа свободной энергии и кинетики фолдинга белка. Согласно этой модели, путь сворачивания белка ДФФР является последовательным процессом, в ходе которого домен, образованный двумя участками, сворачивается первым, а за ним сворачивается домен, образованный несколькими участками. За счет этого конформационная энтропия уменьшается постепенно. Результаты моделирования объясняют экспериментальные данные кинетики сворачивания белка и предсказывают структурные перестройки не по основному пути сворачивания в равновесном состоянии.

Л.А. Шустикова

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Инозитолгексакисфосфаткиназа 1 опосредует сборку/разборку комплекса CRL4-сигналосома и регулирует репарацию ДНК и смерть клетки

Inositol hexakisphosphate kinase-1 mediates assembly/disassembly of the CRL4-signalosome complex to regulate DNA repair and cell death. Feng Rao, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16005–16010.

Инозитолгексакисфосфаткиназа 1 (IP6K1) участвует в модификациях хроматина, сперматогенезе, репарации ДНК. Куллин-RING-убиквитинлигаза 4 (CRL4) — комплекс, состоящий из белка куллин 4 (Cul4), адаптерного белка Roc1 и чувствительного к УФ-повреждению ДНК-связывающего белка 1 (DDB1). DDB1, связываясь с поврежденной ДНК, инициирует эксцизионную репарацию нуклеотидов (NER) путем убиквитилирования гистонов. COP9-сигналосома (CSN) — комплекс из 8 субъединиц, связывающийся с куллином и ингибирующий фоновую активность CRL4 путем отсоединения белка NEDD8. УФ вызывает диссоциацию CSN—CRL4 по неизвестному механизму, приводя к активации E3 лигазы, остановке репликации и к репарации. При помощи тандемной аффинной очистки, вестерн-блоттинга и масс-спектрометрии показано прямое связывание GST—IP6K1 с DDB1 и CSN и не прямое связывание с Cul4 *in vitro* и в лизате клеток HEK293. Делеция DDB1 предотвращала связывание с CSN, а делеция CSN2 — связывание с DDB1. Осаждение субъединиц сигналосомы GST—CSN1/2/5/6 показало связывание CSN1 и CSN2 с тус-IP6K1. Коиммунопреципитацией тус-Cul4A обнаружено связывание с CSN и DDB1, делеция IP6K1 при помощи малых интерферирующих РНК в HEK293 нарушала комплекс CSN—Cul4A и увеличивала присоединение белка NEDD8 к CRL4. При экспрессии мутанта IP6K1 K225A/S335A без каталитической активности или применении селективного ингибитора IP6K1 наблюдалось усиление связывания CSN—CRL4, уменьшение присоединения белка NEDD8 к Cul4 и ослабление эффекта УФ на диссоциацию комплексов IP6K1—CSN и CSN—CRL4. Однако при дефиците IP6K1 слабый CSN—CRL4 комплекс не разрушался, как и слабый комплекс IP6K1—CSN при дефиците DDB1. При нокадауне CSN2 УФ ослаблял комплекс IP6K1-DDB1. Также измерением скорости деградации IP6K1 в присутствии циклогексимида показана стабилизация комплексом CRL4. Предположено образование тройного комплекса, включающего CRL4 и сигналосому, а также IP6K1, который связан с DDB1 и CSN1/2 и стабилизирует комплекс. УФ вызывал 2-кратное повышение генерации IP7 в HEK293. Показано, что DDB1 ингибирует IP6K1-катализируемую генерацию IP7 *in vitro* из [³H]-инозитолгексакисфосфата. Предположено, что IP7 выступает в роли вторичного мессенджера, диссоциирующего CSN—CRL4, несмотря на отсутствие эффекта при добавлении IP7 *in vitro*. Вестерн-блоттингом показано, что коэкспрессия IP6K1 в HEK293 через 24 ч после трансфекции подавляла ускоренное CRL4 убиквитилирование CDT1. Наоборот, после облучения УФ были повышены скорости деградации CDT1, p27 и c-Jun в IP6K1^{-/-} клетках MEF и p21 и p53 в клетках HCT116. Показано, что через 24 ч после облучения дефицит IP6K1^{-/-} в MEF и HEK293 сопровождался более быстрой репарацией димеров циклобутанпиримидина и повышенной устойчивостью к апоптозу. Эффект предотвращался MLN-4924, ингибитором присоединения белка NEDD8 к CRL4.

В.Н. Колядко

Количественная протеомика созревания ооцита дрозофилы

Quantitative proteomics reveals the dynamics of protein changes during *Drosophila* oocyte maturation and the oocyte-to-embryo transition. Iva Kronja, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16023–16028.

В начале индивидуального развития мухи-дрозофилы происходят два события, регулируемые на посттранскрипционном уровне: запуск созревания ооцита (снятие первичного блока профазы I деления мейоза) и активация яйцеклетки (снятие вторичного блока мейоза). Ранее группа биохимиков из США и Германии, применив количественный масс-спектрометрический анализ, описала перестройку протеома, происходящую у дрозофилы во время активации яйцеклетки. В данной работе аналогичное описание сделано с помощью того же метода для запуска созревания ооцита. Это — первое количественное исследование динамики протеома в данном процессе у какого-либо животного. Высказано мнение, что такой подход в дальнейшем может оказаться очень продуктивным для поиска ключевых регуляторов во время важнейших «окон развития». В данном случае показано, что экспрессия гена белка *Muskelin* при запуске созревания ооцита усиливается и является необходимой для регуляции поведения трофоцитов, которые у дрозофилы осуществляют питание созревающего ооцита. Другие белки, экспрессия которых усиливается во время запуска созревания ооцита, в основном представляют собой факторы оогенеза, участвующие также в мейозе. Созревание яйца, напротив, характеризуется началом экспрессии преимущественно эмбриональных белков, активность которых как раз в этот момент начинается. Кроме того, начинают синтезироваться некоторые транспортные интегральные белки, обеспечивающие мембранный транспорт олигопептидов (по-видимому, это нужно для химической коммуникации с фолликулярными клетками) и белки, контролирующие окислительно-восстановительное состояние внутриклеточной среды, например тиоредоксин (по этому признаку развитие дрозофилы очень сходно с развитием некоторых позвоночных). Интересно, что в период запуска созревания ооцита подавляется экспрессия белков, связанных с процессингом РНК, с трансляцией и с РНК-интерференцией. Объединение данных, описывающих изменения протеома при запуске созревания ооцита и при активации яйцеклетки, дает достаточно полную картину динамики регуляторных белков на всех стадиях от начала созревания ооцита до многоклеточного зародыша. В частности, обнаружено 66 белков, синтез которых активируется в начале оогенеза и подавляется в его конце; по-видимому, это означает, что функции этих белков исчерпываются оогенезом. В перспективе разработанный подход может иметь прикладное значение, поскольку многие известные врожденные дефекты развития связаны с нарушениями оогенеза, а общий «портрет» протеома может помочь разобраться в деталях регуляции этого процесса.

С.А. Ястребов

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Механизм поддержания строения рostrума без остеоцитов у марлинов ставит под сомнение современные представления о структурно-функциональных механизмах костной ткани

Remodeling in bone without osteocytes: Billfish challenge bone structure–function paradigms. Ayelet Atkins, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16047–16052.

При постоянной чрезмерной нагрузке на кость в ее структуре накапливаются микроповреждения, впоследствии приводящие к травме. Замена поврежденных участков на новые у наземных позвоночных осуществляется остеоцитами, расположенными внутри костного матрикса. В местах, подверженных наибольшим нагрузкам, численность остеоцитов резко возрастает. При этом в костном матриксе содержится еще один тип клеток — остеокласты, разрушающие костное вещество изнутри, что важно, например, при формировании трубчатых костей: с ростом организма растет и кость, при этом должна расширяться и ее внутренняя полость. Рост полости при этом не должен превышать формирование новой костной ткани, иначе предельная нагрузка на нее резко сокращается. Продукция нового костного вещества осуществляется остеобластами, работающими только в паре с остеокластами. Таким образом, при мелких повреждениях уже сформированной кости активируются только остеоциты, определяющие долговечность уже сформированных костей. Однако у костистых рыб остеоцитов нет вообще, хотя данный инфракласс включает порядка 50% видов среди всех позвоночных животных. Более того, нагрузка на скелет у рыб выше, чем у наземных животных, поскольку вода является более плотной средой, чем воздух. При перемещении в воде на больших скоростях опорно-двигательный аппарат подвержен значительным перегрузкам. На примере семейства марлиновых, имеющих массивное тело, высокую продолжительность жизни и способных развивать скорость 75 км/ч, было продемонстрировано, что перестройка костей у костистых рыб происходит стохастически. Представители данного семейства имеют сильно удлинненную и уплощенную верхнюю челюсть (роstrум), по форме напоминающую заостренный меч размером до трети длины всей рыбы, служащий орудием охоты. Марлиновые врезаются им в свою жертву на большой скорости, оглушая ее. Данная кость подвергается колоссальным нагрузкам на протяжении всей жизни животного. Было показано, что поддержание функционального состояния кости происходит не за счет высокой активности остеоцитов, а за счет того, что на ранних этапах развития роstrум формирует особую микроархитектуру костей, образованную перекрещивающимися вторичными остеонами. При этом данные остеоны имеют очень высокую плотность костного вещества, что позволяет им выдерживать значительные нагрузки. Микроповреждения роstrума регенерируются не целенаправленно, а путем случайного встраивания кальцийсодержащих соединений из межклеточной жидкости, омывающей остеоны. Данное исследование проливает свет на механизмы организации и регенерации костного аппарата позвоночных, что в перспективе может послужить моделью для разработки искусственных высокопрочных материалов повышенной легкости для медицинской и биотехнологической отрасли.

А.Ю. Ольховик

Фактор инициации репликации DnaA у *Caulobacter* связывается с центромерой и запускает хромосомную сегрегацию

Replication initiator DnaA binds at the *Caulobacter* centromere and enables chromosome segregation. Paola E. Mera, Virginia S. Kalogeraki, Lucy Shapiro. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16100–16105.

В большинстве бактерий сегрегация хромосомной ДНК сопряжена с ее репликацией. Консервативный бактериальный белок DnaA связывается с хромосомой в точке начала репликации (*ori*) и иницирует репликацию ДНК. Данная статья посвящена изучению роли белка DnaA в хромосомной сегрегации. Для этого, авторы сконструировали штаммы *Caulobacter*, в которых синтез белка DnaA зависит от наличия в среде индуктора, и отслеживали локализацию в клетках различных белков, ассоциированных с репликацией и сегрегацией хромосом, по флуоресценции котрансляционно связанных с ними маркеров (CFP или mCherry). В *Caulobacter crescentus* белок ParB связывается центромерным участком хромосомы (*parS*), который находится вблизи *ori* и, в свою очередь, взаимодействует с АТФазой ParA, необходимой для движения хромосомы. В клетках, экспрессирующих гибридный белок CFP-ParB, количество флуоресцирующих фокусов, таким образом, отражает количество локусов *parS* (и *ori*). Инициация репликации приводит к миграции одного из двух CFP-ParB/*parS*-комплексов к противоположному полюсу клетки. Оказалось, что при низкой продукции DnaA в клетках находился всего один CFP-ParB/*parS*-фокус, который, тем не менее, перемещался (транслоцировался) к противоположному полюсу в 60% случаев. Дальнейшее снижение количества DnaA приводило к пропорциональному снижению количества случаев транслокации CFP-ParB/*parS*-фокуса. При помощи количественной ПЦР авторы установили, что один CFP-ParB/*parS*-фокус действительно соответствует одной копии *parS*, а не двум, которые перемещаются совместно. В субфизиологической концентрации DnaA может опосредовать транслокацию CFP-ParB/*parS*, но не иницирует репликацию хромосомы. Авторы установили, что, как и в случае нормальной хромосомной сегрегации, для наблюдаемой независимой от репликации сегрегации требуется белок ParA. В *Caulobacter* с комплексом ParB/*parS* взаимодействуют полярные факторы PopZ и MipZ. Авторы установили, что при низкой концентрации DnaA запускаются каскады процессов, включая накопление MipZ и PopZ на противоположном полюсе клетки, характерные для полноценной сегрегации. Также, авторы показали, что DnaA непосредственно связывается с определенным участком *parS*, и это связывание необходимо для инициации транслокации локуса *parS in vivo*. Причем, сродство DnaA к *parS* оказывается выше, чем к *ori*. Таким образом, авторы показали, что репликация хромосомы *Caulobacter* не требуется для ее сегрегации. Белок DnaA играет важную роль в хромосомной сегрегации, непосредственно связываясь с *parS*.

А.П. Корепанов

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Перенос некодирующей ДНК отвечает за перенастройку регуляции генов у бактерий

Transfer of noncoding DNA drives regulatory rewiring in bacteria. Yaara Oren, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16112–16117.

Общепринято мнение, что быстрая эволюция у бактерий объясняется горизонтальным переносом и рекомбинацией генов, кодирующих белки. В то же время, неизвестно, отвечает ли тот же механизм за эволюцию некодирующих регуляторных участков, т. е. переключения регуляции (ПР) генов. Данная работа посвящена изучению вопроса. Для изучения значимости ПР авторы сравнили 1479 коровых генов «домашнего хозяйства» (“housekeeping” genes, НКГ) 46 секвенированных штаммов *Escherichia coli*. Регуляторные области большинства НКГ были крайне консервативны, однако 13% из них были идентичны менее чем на 50%. Так, ген *hemH* и предшествующий ему ген *adk* являются крайне консервативными. В то же время, регуляторный участок между ними может быть двух видов. Эти виды не гомологичны между собой, но почти идентичны внутри вида. Таким образом, *hemH* является типичным примером переключения двух негомологичных регуляторных участков. Оказалось, что аналогичное ПР обнаруживается в 11% всех НКГ. В 83% случаев ПР эти участки являются промоторами. Это может говорить о том, что переключение важно именно для перенастройки регуляции генов. В 41% случаев из 44 НКГ с известными сайтами связывания факторов транскрипции возникали последовательности с альтернативными путями регуляции. Так, в случае *hemH*, присутствует либо сайт связывания OxyR, либо сайты связывания ArgP и DnaA. Оказалось, что промоторные области 51% НКГ не соответствуют филогении штаммов, что свидетельствует в пользу горизонтального переноса, как и в случае с кодирующими генами. Причем, имеет место не только внутривидовой перенос, но и межвидовой. К примеру, в 22 штаммах лидерная последовательность гена *metE* была унаследована от *Enterobacter*. Оказалось, что ПР характерно и для всех прочих категорий генов *E. coli*. В результате ПР меняется глобальный профиль экспрессии генов. В 45% случаев ПР является условно-специфическим. Так, в урогенитальном патогене *E. coli* экспрессия 209 генов изменена по сравнению с интестинальным штаммом *E. coli* при инкубации их в моче. В частности, в патогене увеличена экспрессия гена *metE*. Это дает ему преимущество, так как позволяет противостоять окислительному стрессу, который вызывает иммунная система хозяина и который инактивирует продукт гена *metE*. ПР наблюдается во всем бактериальном домене и его интенсивность зависит от интенсивности рекомбинации в конкретных организмах. Таким образом, впервые показано, что горизонтальный перенос отвечает за эволюцию некодирующей ДНК у бактерий.

А.П. Корепанов

Новый подход к идентификации синаптического протеома

New approach to capture and characterize synaptic proteome. Xin-An Liu, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16154–16159.

Не так много известно о популяции белков, которые транспортируются и локализуются в синапсах. Большое количество исследований демонстрирует специфическую роль в процессах синаптического функционирования и пластичности локализуемых в синапсах белков. Возможность идентификации состава и динамики протеома синапса является ключевой для понимания модификаций существующих и роста новых синапсов, а также для поиска новых терапевтических мишеней при коррекции патологии синапсов. Состав синаптического протеома определяется белками, транспортируемыми из тела клетки, и белками, локально синтезируемыми в синапсах. Полное знание о составе этих белков поможет динамике передачи сигналов в синапсе, а также поможет молекулы, которые являются критическими для модификаций уже существующих и формирования новых синапсов — двух процессов, опосредующих долговременное хранение памяти. Целью данной работы было идентифицировать активно транспортируемые в синапсы белки, поэтому исследование было сфокусировано на белковых комплексах, связанных с кинезинами, белками-молекулярными моторами. Известно, что эти комплексы перемещаются из тела клетки к удаленным участкам нейронов и опосредуют транспорт продуктов экспрессии различных генов. Методология данной работы заключалась в изолировании специфических комплексов кинезинов посредством ко-иммунопреципитации (co-IP) из различных областей мозга мыши и систематической идентификации их белкового груза с помощью масс-спектрометрии. Этот белковый груз включает органеллы и белки, вовлеченные в трансляцию, трансдукцию молекулярных каскадов и в обеспечение ионных каналов. Известно, что некоторые из этих белков вовлечены в развитие нейропсихиатрических расстройств. В данной работе подход был применен для идентификации и сопоставления белков, транспортируемых в синапсы комплексами кинезинов Kif5C и Kif3A в гиппокампе и префронтальной коре мышей. Приблизительно 40–50% транспортируемых белков, идентифицированных посредством данного протеомного анализа комплексов кинезинов, являются известными синаптическими белками. Оказалось, что один и тот же нейрон может экспрессировать разные комплексы кинезинов, однако разные комплексы кинезинов транспортируют разные наборы белков. «Выключение» активности, например, комплекса Kif5C с помощью малых интерферирующих РНК привело к достоверному снижению представления белкового состава, характерного для данного комплекса кинезинов, и не приводило к изменению белкового состава другого комплекса кинезинов. Также было обнаружено, что характер кинезинов и то, где они экспрессируются, определяет, какие белки они транспортируют. Этот новый подход позволяет идентифицировать популяции белков, транспортируемых в синапсы. Полученные результаты обнаруживают ранее недооцененную роль кинезинов в отношении определения состава синаптического протеома.

О.Е. Сварник

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Антисмысловые транскрипты *COOLAIR* участвуют в процессе координированного переключения состояния хроматина на локусе *FLC* во время яровизации

Antisense *COOLAIR* mediates the coordinated switching of chromatin states at *FLC* during vernalization. Tibor Csorba, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16160–16165.

Важнейшим этапом жизни растений является переход от вегетативного роста к цветению, которое находится под контролем метаболических путей, регулирующих экспрессию гена *FLC*. Ранее было показано, что процесс яровизации, то есть ускорения цветения при длительном пребывании на холоде, приводит к эпигенетическому сайленсингу гена *FLC* с участием комплекса (поликомб-подавляющий комплекс, polycomb repressive complex 2, PRC2). Пребывание на холоде индуцирует образование на сайте нуклеации в гене *FLC* модифицированного комплекса PRC2 (PHD-PRC2), включающего гомеодоменные растительные белки (PHD) VRN5 и VIN3. При возвращении в теплые условия комплекс PHD-PRC2 способствует повышению уровня триметилирования остатка лизина Lys27 в гистоне 3 на участке хроматина вблизи гена *FLC*. В то же время, известно, что длинные некодирующие РНК играют важную роль в регуляции активности генов у высших эукариотов. Однако до сих пор нет единого мнения насчет их роли в процессе эпигенетического сайленсинга и возможного механизма обеспечения специфичности этого процесса. В настоящей работе авторы исследовали функции набора индуцируемых холодом транскриптов антисмысловой цепи ДНК в процессе поликомб-зависимого эпигенетического сайленсинга гена-репрессора цветения у *Arabidopsis thaliana*. В ходе работы авторы исследовали процесс образования *COOLAIR*, группы длинных антисмысловых РНК, экспрессируемых на локусе *FLC*, образующихся при длительном воздействии холода параллельно с накоплением модифицированного остатка лизина Lys27 в гистоне 3, модификации H3K27me3, являющейся характерным признаком сайленсинга гена *Polycomb* в отличие от своей противоположности, модификации H3K36me3. Оценка возможного влияния антисмысловых транскриптов на процесс сайленсинга производилась путем анализа гена *FLC*, в котором отсутствовал промоторный участок *COOLAIR* и, следовательно, был подавлен синтез этих транскриптов в условиях холода. Было показано, что в условиях холода *COOLAIR* физически ассоциируются с участком хроматина в месте расположения локуса *FLC* в двух регуляторных участках и в значительной степени ускоряют репрессию транскрипции гена *FLC*. Авторами было предположено, что длинные антисмысловые транскрипты специфически связываются с комплексом PRC2 и стимулируют его воздействие на определенные молекулярные мишени. Удаление *COOLAIR* приводило к нарушению процесса замены модификации H3K36me3 на H3K27me3 внутри гена *FLC* при нахождении в условиях холода. Также с помощью генетического анализа было показано, что в процессе холодозависимого сайленсинга *FLC* комплексы *COOLAIR* и *Polycomb* функционируют независимо друг от друга. Роль длинных антисмысловых транскриптов заключается в координированном переключении состояний хроматина, происходящим во время эпигенетической регуляции.

И.М. Мохосоев

Молекулярный AAA-АТФазный шаперон Cdc48/p97 участвует в разборке сумоилированных центромер, деконденсации гетерохроматина и активации генов рибосомальных РНК

The AAA-ATPase molecular chaperone Cdc48/p97 disassembles sumoylated centromeres, decondenses heterochromatin, and activates ribosomal RNA genes. Zsuzsanna Mérai, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16166–16171.

Белок CenH3 определяет участие центромер в процессе сегрегации хромосом во время мейоза и митоза. Его отсутствие в центромерах является основным признаком окончательной дифференцировки клеток. Этот белок является гомологом дрожжевого белка Cdc48 и белка p97 человека, которые участвуют в убиквитин/SUMO-направляемой деградации белков в клетке. Для белка p97 показано, что мутации в гене *p97* ассоциируются с дегенерацией моторных нейронов и заболеваниями нервной системы, таких как деменция. Персистенция белка CenH3 также увеличивает риск возникновения онкологических заболеваний. CenH3 отсутствует в неподвергающихся клеточному делению вегетативных клетках пыльцы *Arabidopsis thaliana*, в которых также происходит деконденсация гетерохроматина центромеры и активация молчащих генов рРНК, сопровождающаяся их транслокацией в ядрышко. Процесс сборки *de novo* этого белка CenH3 на центромерах является относительно хорошо изученным процессом, в то время как механизм удаления белка CenH3 и последующей разборки центромеры — естественного биологического процесса, происходящего в клетке во время ее жизни, — остается невыясненным. Ранее авторами работы было показано, что в вегетативных клетках пыльцы *Arabidopsis thaliana* происходит удаление белка CenH3 из центромер, совпадающее с потерей гетерохроматиновой метки, т. е. деметилированного остатка лизина Lys9 гистона H3 (H3K9me2), и деконденсации гетерохроматина. В настоящей работе авторы описали механизм активной разборки центромеры, который осуществляется при активном участии белка CDC48A, обладающего AAA-АТФазной активностью молекулярного шаперона. В результате выполнения работы было показано, что в процессе разборки центромеры происходит деконденсация гетерохроматина, транслокация повторов молчащей рДНК в ядрышко и активация генов рРНК. В ходе выполнения работы было показано, что эти процессы могут быть заблокированы аминокислотными заменами в шапероне CDC48A. CDC48A физически связывается с его гетеродимерным кофактором UFD1-NPL4, обладающим способностью связываться с убиквитином и SUMO, а также с SUMO-модифицированным CenH3. Результаты свидетельствуют об активном удалении из центромер сумоилированного белка CenH3, осуществляемого белковым комплексом CDC48ANPL4. Это приводит к нарушению гетерохроматиновой структуры центромер, их деконденсации и высвобождению большей части генов рРНК в ядрышко, где происходит образование рибосомы. CDC48A-опосредованная деконденсация гетерохроматина и активация генов рРНК представляют собой универсальный механизм, который, возможно, используется другими типами окончательно дифференцированных типов клеток, в том числе нейронами.

И.М. Мохосоев

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Осуществляемая белком теплового шока HsfB2b репрессия транскрипта гена *PRR7* управляет реакцией на абиотические стрессы циркадных часов

HsfB2b-mediated repression of *PRR7* directs abiotic stress responses of the circadian clock. Elsebeth Kolmos, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16172–16177.

Циркадные часы являются эндогенным механизмом, синхронизирующим физиологические процессы организма с изменениями окружающей среды. Циркадный осциллятор работает с периодом, равным примерно 24 ч. Он воспринимает сигналы окружающей среды, такие как свет и температура, и позволяет организму предвидеть ее ежедневные изменения. Циркадная система включает несколько взаимосвязанных петель обратной связи с участием фазово-специфических генных продуктов. В модельном растении арабидопсисе петли утренней обратной связи состоят из основных белков: *CCA1* и *LHY*, концентрация которых достигает максимума на рассвете. Они активируют экспрессию ранних утренних генов *PRR9* и *PRR7*. Белки *PRR* являются репрессорами транскрипции. Оба белка *PRR9* и *PRR7* замыкают утренние петли путем связывания с *CCA1* и *LHY* промоторами. Транскрипция *PRR9* эффективно активируется светом. Это не характерно для *PRR7*. Семейство белков теплового шока (*Hsf*) факторов транскрипции является наибольшим в растениях по сравнению с грибами и животными. Геном арабидопсиса кодирует 21 белок *Hsfs*. Многие из них активируются в ответ на тепловой стресс, но специфические *Hsfs* реагируют на другие абиотические стрессы, в том числе на окислительный стресс и засуху. Экстремофил *Thellungiella salsuginea*, родственник арабидопсису, имеет 28 разных белков *Hsfs*. Это свидетельствует о значимости данного семейства факторов транскрипции для стрессовых реакций. Белки *Hsfs* связываются с повтором элемента теплового шока (*HSE*), который является инвертированным повтором нуклеотидов *nGAAn*. *HsfB1* и *HsfB2b* функционируют в репрессии транскрипции, и их избыточная экспрессия в ядре приводит к гибели клеток. В статье авторы представляют данные, свидетельствующие о том, что *Hsf* функционирует в восприятии внешних стимулов во входном пути сигналинга циркадных часов растений. Используя гибридную дрожжей, авторы выделили несколько белков *Hsfs*, в том числе *HsfB2b*. Показано, что *HsfB2b* функционирует в качестве транскрипционного репрессора, который связывает промотор гена *PRR7* в консервативном участке связывания. Установлено, что экспрессия белка *HsfB2b* приводит к низким уровням транскрипта гена *PRR7* и позднему началу цветения. Фенотипически это проявляется также вытянутыми гипокотылями. Функция белка *HsfB2b* важна в условиях температурного и солевого стресса. Избыточная экспрессия гена *HsfB2b* поддерживает циркадные ритмы. Мутант *hsfB2b* имеет короткий циркадный период в этих условиях. Ген *HsfB2b* также участвует в регуляции роста гипокотыля. Авторы подчеркивают роль циркадных часов в качестве интегратора сигналов окружающих абиотических стрессов, значимых для роста и приспособляемости растений.

С.К. Жармухамедов

Использование метода белковых сшивок и радиолитического футпринтинга для исследования взаимодействия белков *PsbP* и *PsbQ* в фотосистеме II высших растений

Use of protein cross-linking and radiolytic footprinting to elucidate *PsbP* and *PsbQ* interactions within higher plant Photosystem II. Manjula P. Mummadisetti, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16178–16183.

В состав комплекса фотосистемы II (ФС II), расположенного на мембране, входят, по крайней мере, 20 белковых субъединиц, из которых 17 являются интегральными мембранными белками. У высших растений три белка (*PsbO*, *PsbP* и *PsbQ*) не являются мембранными белками и ассоциируются с этим мембранным комплексом. Эти белки необходимы для оптимальной скорости эволюции молекулярного кислорода при физиологических концентрациях ионов кальция и хлора. Однако до сих пор нет ясной картины расположения этих белковых компонентов внутри ФС II. В настоящей работе авторы использовали методы химических сшивок белков с использованием бис-сульфосукцинимидилсуберата, радиолитического футпринтинга в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения для изучения структуры белков *PsbP* и *PsbQ*, ассоциированных с ФС II. Было показано, что N-концевой участок белка *PsbP*, состоящий из 15 аминокислотных остатков, образует компактную структуру и взаимодействует с C-концевым доменом этого белка. Эти взаимодействия внутри белковой молекулы налагают строгие ограничения на ее расположение относительно других компонентов ФС II и могут способствовать стабилизации структуры N-концевого домена белка *PsbP* и облегчить его связывание с другими белками. Было показано, что аминокислотные остатки тирозина Tyr93 и лизина Lys96, расположенные в петле 3A-домена белка *PsbP* (Lys90–Val107), находятся в непосредственной близости (на расстоянии $\leq 11,4$ Å) от N-концевого остатка глутаминовой кислоты Gly1 в белке *PsbQ*. Белки *PsbP* и *PsbQ* непосредственно взаимодействуют друг с другом и были идентифицированы домены, участвующие во взаимодействии между этими двумя белками. Кроме того, метод белковых сшивок показал взаимодействие двух молекул белка *PsbQ*, напоминающее образование димеров белка *CyanoQ* у цианобактерий. С помощью радиолита молекул воды с использованием синхротрона, приводящего к образованию гидроксильных радикалов, для окислительной модификации поверхностных остатков белков *PsbP* и *PsbQ* было показано, что субъединицы обоих белков не контактируют с молекулами воды и погружены в мембранный бислой, где могут взаимодействовать с другими компонентами ФС II. По мнению авторов, взаимодействия между белками *PsbP* и *PsbQ* обеспечивают молекулярную модель для понимания структурных и функциональных взаимоотношений в сложном белковом комплексе ФС II. Авторы также рассмотрели два возможных варианта взаимодействия белков *PsbP* и *PsbQ* при их ассоциации с ФС II. В результате они пришли к выводу, что положение белка *PsbQ* требует дополнительной проверки.

И.М. Мохосоев

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Возможный механизм регулирования количества слоев клеток коры корня, основанный на движении фактора транскрипции, белка SHORT-ROOT

A plausible mechanism, based upon SHORT-ROOT movement, for regulating the number of cortex cell layers in roots. Shuang Wu, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16184–16189.

Точность развития специализированных клеток и тканей достигается за счет функционирования межклеточных сигнальных сетей, которые устанавливают закономерности дифференциальной экспрессии генов и, в конечном счете, определяют судьбы клеток. Корень *Arabidopsis thaliana* состоит из отдельных слоев одиночных клеток, которые концентрически расположены вокруг центрального ядра основных сосудистых тканей, и вместе с периклином образует стелу. Основная ткань большинства, если не всех, корней содержит один слой эндодермы. Этот слой образует водонепроницаемый барьер и защищает сосудистые ткани. Наружной частью эндодермы является кора. В природе почти все растения имеют только один слой эндодермы. Количество слоев клеток коры часто различается у разных видов растений, а также между корнями на одном и том же растении. У *A. thaliana*, как и у других двудольных, эндодерма и кора являются клонально-связанными слоями клеток, которые возникают из асимметричных периклиальных делений корковых эндодермальных дочерних клеток (CED). Клетки CED располагаются на кончике корня, прилегающему к стеле. Их деление контролируется факторами транскрипции, белками SHORT-ROOT (SHR) и SCARECROW (SCR). Белок SHR экспрессируется в стеле и движется в соседние клетки эндодермы и CED клетки, где он активирует экспрессию следующего фактора транскрипции, SCR. В CED клетках, белки SHR и SCR вместе активируют экспрессию циклина D-типа (CYCD6;1). Циклин активирует периклиальное деление CED клеток. Клетки CED корней, в которых отсутствуют SHR или SCR не делятся периклиально и поэтому образуют лишь один слой основной ткани. В статье показано, что экспрессия консервативного белка SHR в коре корня *A. thaliana* отвечает за определение количества слоев клеток коры и что количество клеточных слоев является функцией степени движения белка SHR. Исследовали, как SHR-белки из *A. thaliana* (AtSHR), *Brachypodium distachyon* (BdSHR), и *Oryza sativa* (OsSHR1 и OsSHR2) участвуют в формировании паттерна основной ткани корня. Показано, что все SHR-гомологи смогли выйти из стелы в основную ткань. Движение SHR-белков зависело от плазмодесм и консервативных последовательностей в пределах GRAS-домена в структуре SHR-белков. Белки SCR физически взаимодействуют с белками SHR и изолируют SHR в ядрах эндодермальных клеток, предотвращая дальнейшее движение в массив клеток коры. Таким образом, показано, что SHR-белки функционируют в качестве мобильных сигналов и физически взаимодействуют с SCR-белками. Авторы утверждают, что регулируемое межклеточное движение фактора транскрипции SHR определяет количество слоев клеток коры, формирующихся в корнях разных видов растений.

С.К. Жармухамедов

Фермент метилтрансфераза 3, метилирующая аргинины белков у *Arabidopsis thaliana*, необходима для процессинга предшественника рибосомной РНК при биогенезе рибосом

Arabidopsis protein arginine methyltransferase 3 is required for ribosome biogenesis by affecting precursor ribosomal RNA processing. Runlai Hang, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16190–16195.

Процесс биогенеза рибосом является фундаментальным, сложным и высококооперативным. Ввиду многоступенчатости биогенеза рибосом, возможности ошибок, и энергоёмкости процесса, он жестко регулируется. В эукариотических клетках мутации в рибосомных белках или факторах сборки рибосом обычно приводят к аномальному процессингу предшественника рРНК и, в конечном итоге, к разным генетическим заболеваниям человека. Ферменты метилтрансферазы (PRMTs) осуществляют процесс посттрансляционной модификации белков, которая широко встречается у эукариот, а именно, — катализируют метилирование аминокислоты аргинина. Представители семейства PRMTs вовлечены во многие значимые биологические процессы. Метилирование аргинина рибосомных белков RPS3 и RPS10 в клетках человека, катализируемое, соответственно, PRMT1 и PRMT5, облегчает их правильную сборку в малую субъединицу рибосомы. Механизм биогенеза рибосом расшифрован в работе на почкующихся дрожжах, *Saccharomyces cerevisiae*. Исследования показали особую роль PRMT3 в гомеостазе клеточных рибосомных субъединиц. Установлено, что в дрожжах и млекопитающих сосуществуют два альтернативных пути процессинга предшественника рРНК (пре-рРНК). Установлено, что фермент PRMT3 является цитоплазматическим белком, широко экспрессированным в эукариотах. Путь процессинга пре-рРНК, происходящий в растениях, исследовался ранее на модельном растении арабидопсис. Но есть ли у арабидопсиса альтернативный путь процессинга аналогичный таковому в почкующихся дрожжах, оставался нерешенным. В статье авторы выявили у растений консервативную локализованную в цитоплазме аргининметилтрансферазу (AtPRMT3). Авторы доказали, что фермент AtPRMT3 необходим для биогенеза рибосом потому, что оказывает существенное влияние на процессинг предшественника рРНК. Нарушение функционирования AtPRMT3 приводит к плеiotропным дефектам развития, несбалансированным профилям полирибосом и аномальному процессингу пре-рРНК. Обнаружена 32S-рРНК, маркер альтернативного пути процессинга пре-рРНК. Показано, что количество 32S-рРНК существенно повышается в *atprmt3*-мутантах. В отличие от 32S-рРНК, количество фрагмента Р-А3, маркера основного пути процессинга пре-рРНК, в *atprmt3*-мутантах понижается. Авторы выявили альтернативный путь процессинга пре-рРНК у арабидопсиса и продемонстрировали, что фермент AtPRMT3 необходим для сбалансированного сосуществования этих двух путей, поддерживая нормальный рост и развитие растения. Данная работа, по-видимому, раскрывает ранее неизвестную функцию ферментов семейства PRMTs в посттранскрипционном регулировании рРНК и выявляет дополнительный уровень сложности в регулировании биогенеза рибосом.

С.К. Жармухамедов

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Оксид азота подавляет осуществляемый калиевым каналом АКТ1 процесс поглощения калия, изменяя гомеостаз витамина В₆ у *Arabidopsis thaliana*

Nitric oxide negatively regulates AKT1-mediated potassium uptake through modulating vitamin B₆ homeostasis in *Arabidopsis*. Jinchan Xia, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No. 45. P. 16196–16201.

Оксид азота (NO), одна из ключевых сигнальных молекул в растениях, участвует во многих физиологических процессах и адаптационных реакциях в ответ на стрессы окружающей среды. Он влияет на прорастание и состояние покоя семян, развитие корней, старение листьев, переходы в стадиях цветения, движения устьиц, гомеостаз железа и гормональные реакции. Высокие концентрации соли — один из основных экологических факторов, ограничивающих эффективность сельского хозяйства. Засоленность почв вызывает быстрое эндогенное накопление NO в растениях, увеличивает поступление ионов натрия и уменьшает всасывание ионов калия в корнях растения. Уровень калия в тканях регулируется транспортерами и каналами. У арабидопсиса калиевый канал АКТ1 и транспортер ионов калия AtНАК5 являются двумя основными молекулярными структурами, отвечающими за поглощение ионов калия из окружающей среды. Активность белка АКТ1 регулируется его обратимым фосфорилированием. Недавние исследования показали потенциальную связь между поглощением ионов калия и гомеостазом витамина В₆ у растений. У мутанта *sos4*, содержащего низкие концентрации калия и высокие концентрации натрия по сравнению с растениями дикого типа, уровни пиридоксаль-5'-фосфата (PLP), активной формы витамина В₆, были необычайно высокими. Предполагалось, что PLP влияет на активность ионных каналов, особенно калиевых каналов, у растений. Авторы показали, что оксид азота уменьшает поглощение ионов калия, осуществляемое АКТ1 калиевым каналом растений, путем модуляции биосинтеза витамина В₆. Был проведен скрининг мутантов растения арабидопсис, обладающих гиперчувствительностью по отношению к NO и выявлен и охарактеризован новый NO-гиперчувствительный мутант (*sno1*). Выяснено, что *sno1* является аллельным к ранее известному мутанту *sos4*. У мутанта *sno1* был идентифицирован ген *SNO1*. Показано, что ген *SNO1* кодирует фермент пиридоксаль киназу. Этот фермент катализирует превращение витамина В₆ в пиридоксальфосфат. NO индуцирует экспрессию гена *SNO1* и накопление PLP. PLP значительно ингибирует активность АКТ1-калиевых каналов, повышающих эндогенное содержание калия в ооцитах ксенопусс и корневых протопластах арабидопсиса. Полученные результаты показывают, что NO уменьшает поглощение ионов калия за счет стимулирования синтеза активной формы витамина В₆, соединения PLP.

С.К. Жармухамедов

Механизм активации торсина

The mechanism of Torsin ATPase activation. Rebecca S. H. Brown, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. E4822–E4831.

Торсины — мембрано-связанные АТФазы, принадлежащие к AAA+ суперсемейству АТФаз. Они отличаются от других представителей суперсемейства отсутствием некоторых консервативных аминокислотных остатков, необходимых для каталитической активности, которая находится в строгой зависимости от связывания с двумя регуляторными дополнительными кофакторами: белками LAP1 и LULL1, трансмембранными белками II типа, стимулирующими АТФазную активность торсинов. Ранее авторы предположили, что LAP1 и LULL1 являются активирующими кофакторами торсинов. Но механизм остается невыясненным. В настоящей работе исследован механизм активации торсинов. Впервые продемонстрировано структурное сходство между белками LAP1, LULL1 и AAA+-доменом АТФаз. Показано, что в белках семейства торсинов отсутствует консервативный остаток аргинина, присутствующий в обоих активаторах торсинов и являющийся аминокислотным остатком, необходимым для проявления АТФазной активности всех известных AAA+ АТФаз. Этот остаток располагается на границе между молекулами активатора и торсина и крайне необходим для проявления активности торсина, стимулируемой белками LAP1 и LULL1. Показано, что аминокислотные замены R449A и R449E в белке LULL1 приводят к снижению активности торсина в 10 и 95 раз, соответственно. В случае белка LAP1 активность торсина понижалась в 17 и 55 раз при аминокислотных заменах R563A и R563E, соответственно. Кофакторы и торсины образуют гетероолигомерные комплексы, где высоко консервативный остаток аргинина располагается в молекуле кофактора, находящегося вблизи нуклеотида, связанного с субъединицей торсина. Кроме того, было показано, что эти остатки аргинина сохраняются в гомологах белков LAP1 и LULL1 во время эволюции данных белков. Исходя из положения, что остаток аргинина необходим для стимуляции АТФазной активности торсина, но не обязателен для связывания, авторы предположили, что кофакторы LAP1 и LULL1 регулируют АТФазную активность торсина через механизм комплементации активного сайта. Белки LAP1 и LULL1 вместе с торсинами, вероятно, образуют биологически активную АТФазную машину в условиях *in vivo*. Белки LAP1 и LULL1 являются составными частями этой молекулярной машины и могут подвергаться регуляции (например, в результате посттрансляционных модификаций) или контролю через связывание с взаимодействующими партнерами в цитоплазме и ядре. Взаимодействие с партнерами может вызывать конформационные изменения и влиять на активность торсинов.

И.М. Мохосоев

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Участие атипичной протеинкиназы C в регуляции сигнального пути Hedgehog у дрозофилы

Hedgehog-regulated atypical PKC promotes phosphorylation and activation of Smoothed and Cubitus interruptus in *Drosophila*. Kai Jiang, Yajuan Liu, Junkai Fan, Garretson Epperly, Tianyan Gao, Jin Jiang, Jianhang Jia. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. E4842–E4850.

Белок Smoothed (Smo) важен для функционирования сигнального пути Hedgehog (Hh) как у насекомых, так и у позвоночных. Сам этот белок представляет собой мембранный рецептор, ассоциированный с G-белками. Известно, что его патологическая активность приводит к опухолям — базальноклеточному раку (basal cell carcinoma, BCC) и медуллобластоме. Присутствие этого белка на поверхности клеток и в ресничках, несомненно, необходимо для передачи сигналов по пути Hh, но до сих пор было очень мало данных о том, как процесс накопления белка Smo контролируется. В данной работе американские биологи показали, что в формирующихся крыльях дрозофилы накоплением белка Smo управляет атипичная протеинкиназа C (atypical protein kinase C, aPKC), которая фосфорилирует Smo, способствуя его накоплению в базолатеральных областях поляризованной клетки, — процесс, важный для развития и функционирования эпителия. Инактивация aPKC — безразлично, посредством РНК-интерференции или через мутацию, — ингибирует аккумуляцию Smo в базолатеральных частях клеток и ослабляет экспрессию генов сигнального пути Hh. Что касается самого белка Smo, то тут имеет место ступенчатый процесс: фосфорилирование серина в позиции 680, производимое aPKC, облегчает фосфорилирование серина в позиции 683, которое производит уже другой фермент — казеинкиназа 1 (casein kinase1, CK1). Более того, aPKC играет еще и дополнительную позитивную роль в контроле Hh сигналинга: она регулирует активность фактора транскрипции Cubitus interruptus (Ci) путем фосфорилирования присутствующего в этом белке ДНК-связывающего домена «цинковых пальцев». И наконец, экспрессия самого гена aPKC, в свою очередь, может запускаться через сигнальный путь Hh — это означает, что здесь присутствует обратная связь. Все эти данные показывают, что aPKC значительно — несколькими способами сразу — вовлечен в регуляцию сигнального пути Hh, а это значит, что данный фермент очень важен для становления клеточной полярности. Вопросов остается еще много. Например, известно, что Hh сигналинг имеет пространственный аспект: он может по-разному проявляться в базальных или апикальных частях клеток в зависимости от того, в каком отделе имагинального диска крыла дрозофилы они расположены. Между тем исследования могут иметь практическое значение, вплоть до клинического. Например, у млекопитающих некоторые виды рака, по-видимому, связаны с атипичной локализацией Smo в клетках ресничного эпителия.

С.А. Ястребов

Филотранскриптомный анализ происхождения и ранней дивергенции наземных растений

Phylotranscriptomic analysis of the origin and early diversification of land plants. Norman J. Wickett, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. E4859–E4868.

Реконструкция взаимоотношений наземных растений (*Embryophyta*) с их предками-водорослями остается актуальной проблемой, значимость которой для понимания эволюции трудно переоценить. Некоторые филогенетические гипотезы до сих пор не подтверждены и не опровергнуты, в основном из-за малой выборки исследованных таксонов. Стремясь обойти это ограничение, группа американских, китайских и канадских молекулярных биологов собрала данные по транскриптомам (суммам непосредственных продуктов генов) 92 представителей *Streptophyta*. В эту группу по современной классификации входят все высшие растения вместе с несколькими группами зеленых водорослей. Исследование было дополнено анализом 11 опубликованных полных геномов растений. Филогенетическая реконструкция, построенная в итоге, была основана на данных по 852 ядерным генам. Всего выровненных сайтов рассматривалось более 1 млн. Данные были перекрестно обработаны несколькими методами, включая метод максимального сходства и байесовский анализ. Результатов было получено несколько. Прежде всего, подтверждена монофилия группы *Streptophyta*: некоторые группы зеленых водорослей ближе родственны высшим растениям, чем другим зеленым водорослям. Новые данные не подтверждают гипотезу, что сестринской группой высших растений являются харовые водоросли (*Charales*). Зато надежную поддержку получила гипотеза о близком родстве высших растений с другой группой стрептофитовых зеленых водорослей — конъюгатами или сцеплянками (*Zygnematophyceae*). К этой группе относятся зеленые водоросли с коккоидным или нитчатым и половым процессом в виде конъюгации. Если эта филогенетическая гипотеза верна, то конъюгаты, у которых отсутствуют подвижные клетки и плазмодесмы, скорее всего, являют собой пример вторичного упрощения. Также уточнена филогения мохообразных: новые данные опровергают старую гипотезу о печеночных мхах (*Marchantiophyta*) как сестринской группе по отношению к другим наземным растениям.

С.А. Ястребов

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

Связь генетического разнообразия у животных с репродуктивной стратегией

Comparative population genomics in animals uncovers the determinants of genetic diversity. J. Romiguier, et al. Nature. 2014. Vol. 515. No 7526. P. 261–263.

Совокупность отклонений в последовательностях ДНК у различных представителей вида называется его генетическим разнообразием (ГР). Эта центральная концепция популяционной генетики важна для оценки состояния отдельных видов, возможности их одомашнивания и сохранения. Степень ГР изменяется в широких пределах, но факторы, определяющие эти различия, до сих пор остаются загадкой. В данной работе доказывается, что ГР вида есть величина предсказуемая, определяемая, в первую очередь, его экологической стратегией. В процессе выполнения работы были исследованы геномы 76 видов животных, относящихся к 31 семейству и 8 типам. Анализ проводился путем секвенирования транскриптомов 2–10 особей каждого вида. ГР оценивалось по уровню синонимичных различий между двумя случайно выбранными гомологичными последовательностями (π_s). Наиболее низкое ГР обнаружилось у термита *Reticulitermes grassei* ($\pi_s = 0,1\%$), наиболее высокое — у морского брюхоногого моллюска *Bostrycapulus aculeatus* ($\pi_s = 8,3\%$). Виды, относящиеся к одному семейству, были более сходны по уровню ГР, чем виды из разных семейств, что противоречит гипотезе о ведущей роли условий существования в формировании ГР. Полученные значения ГР были сопоставлены с биогеографическими, экологическими и биологическими параметрами. Корреляция между ГР и первыми двумя группами параметров (ареал, широта обитания, водный или наземный образ жизни и пр.) не прослежена. В качестве биологических параметров рассматривались: размер и масса взрослой особи, продолжительность жизни, плодовитость и размер особи на стадии перехода к самостоятельной жизни (пропагулы). Установлено, что все биологические параметры имеют достоверную связь с ГР, при этом наиболее тесная связь прослежена с размером пропагулы. Животные с К-стратегией (производящие небольшое количество потомства и проявляющие заботу о нем), вне зависимости от их размера, места обитания и систематической принадлежности, имеют более низкий уровень ГР, по сравнению с животными с r-стратегией (высокая плодовитость, отсутствие заботы о потомстве). Почему именно r/K-градиент оказывает столь сильное влияние на ГР? Можно предположить, что К-стратегия менее зависима от условий внешней среды, что обеспечивает их жизнестойкость даже в небольших популяциях, при низком ГР. Наоборот, r-стратегию «могут себе позволить» только виды с высокой численностью популяций. Изменения внешней среды влияют на любой вид, но их демографические последствия будут зависеть от репродуктивной стратегии данного вида. Выводы данной работы необходимо учитывать в области природоохранной деятельности. В частности, высокий уровень ГР, присущий r-стратегам, не является гарантией благополучия этих видов. Они могут вымереть, не подав ясного генетического сигнала в виде снижения ГР.

О.В. Герасимова

Влияние экологической стратегии жертвы на эко-эволюционную динамику в системе «хищник — жертва»

Form of an evolutionary tradeoff affects eco-evolutionary dynamics in a predator-prey system. Minoru Kasada, Masato Yamamichi, Takehito Yoshida. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16035–16040.

Отбор, определяемый экологическими взаимодействиями, может быть причиной наследственной фенотипической изменчивости, т. е. эволюции, а эволюция, в свою очередь, может оказать влияние на экологические взаимодействия. Следовательно, экологическая и эволюционная динамика могут быть тесно связаны, что важно для прогнозирования, но мы только начинаем понимать такие связи; существует значительный разрыв между теоретическими предсказаниями и эмпирическими тестами. С помощью лабораторного эксперимента «хищник — жертва» в настоящей работе показано, как экологическая стратегия жертвы определяет эко-эволюционную динамику. В качестве хищника в эксперименте использованы коловратки *Brachionus calyciflorus*, в качестве жертвы — несколько клонов водорослей *Chlorella vulgaris* с разной экологической стратегией сосуществования с хищником. Клон UTEX1809 имел высокую скорость размножения; у клона UTEX1811 скорость размножения низкая, но клетки хорошо защищены от переваривания — после поедания коловраткой и дефекации они чаще оставались в жизнеспособном состоянии. Пара клонов UTEX396 и UTEX265 имела те же, но менее выраженные различия. Эксперимент с коловратками и смесью клонов UTEX1809 и UTEX1811, проведенный трижды, дал сходные результаты: стабилизация системы «хищник — жертва» при исчезновении клона UTEX1811 и низкой численности коловраток. Результаты экспериментов со второй парой клонов были следующие: сосуществование обоих клонов с примерно равной численностью либо исчезновение из системы клона с незащищенными клетками. Первый результат был получен при сравнительно низкой численности хищников, второй — при высокой. Следовательно, при высокой численности коловраток в эксперименте со второй парой клонов отбор водорослей велся на выживание защищенных форм. Таким образом, различные формы экологической стратегии обеспечивают разную популяционную динамику — в этом результат проведенных экспериментов соответствует теоретическим выводам. Однако в теоретических моделях предполагается, что данные об экологической стратегии могут быть использованы для прогноза эко-эволюционной динамики. Представленные в настоящей работе эмпирические данные, полученные при наблюдении за реальными организмами, не подтверждают прямой связи между экологической стратегией и эко-эволюционной динамикой в системе «хищник — жертва». Межвидовые вариации в популяциях часто оцениваются количественно. Как показал проведенный эксперимент, качественные различия в проявлении одной и той же особенности тоже могут иметь существенное значение.

О.В. Герасимова

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Науки о Земле и смежные экологические науки

Роль Антарктики в развитии оледенения в Северном полушарии

Antarctic role in Northern Hemisphere glaciation. Stella C. Woodard, Yair Rosenthal, Kenneth G. Miller, James D. Wright, Beverly K. Chiu, Kira T. Lawrence. Science. 2014. Vol. 346. No. 6211. P. 847–851.

Изотопно-кислородные данные, полученные при изучении бентосных фораминифер ($\Delta^{18}\text{O}_{\text{bf}}$) в отложениях Арктического бассейна, свидетельствуют о том, что примерно 2,73 млн лет назад климат Земли претерпел серьезные изменения. Теплый период позднего плейстоцена, когда температуры на поверхности планеты были на 2–3 °C выше, чем сейчас, сменился развитием интенсивного оледенения в Северном полушарии. Это подтверждается и появлением в осадочных отложениях периода большого количества принесенного ледником дебриса. Анализ изотопных отношений $\Delta^{18}\text{O}_{\text{bf}}$ в отложениях разреза скважины №1208, пробуренной в рамках «Программы океанического бурения» (ODP) в районе возвышенности Шатского в с.-з. части Тихого океана, позволяет восстановить историю изменения глубинных вод этой части Тихого океана в период 3,15–2,75 млн лет назад, т. е. в период, непосредственно предшествующий развитию оледенения в Северном полушарии. В качестве сравнения брались данные скважины №607 «Проекта глубинного морского бурения в Северной Атлантике» (DSDP). До оледенения глубинные воды северной Тихого океана были значительно более холодными (4 °C) и пресными, чем глубинные воды северной Атлантики, а водный обмен между двумя бассейнами отсутствовал. Примерно 2,73 млн лет назад разница в температурах глубинных вод двух этих бассейнов почти сравнялась (градиент составлял не более 1 °C) благодаря поступлению теплых вод из Атлантики в Тихий океан. Авторы предполагают, что активно развивавшееся в период 3,15–2,75 млн лет назад оледенение Антарктики, явившееся следствием понижения уровня моря на 21 ± 10 м, привело к появлению в полярных водах мощного галокина. Это коренным образом изменило характер глубинной циркуляции в водах Мирового океана и привело к возникновению интенсивного теплового и соляного обмена между водами двух полушарий, что во многом повлияло на развитие оледенения в Северном полушарии. Так, современное значение изотопного отношения $\Delta^{18}\text{O}$ в глубинных водах Тихого океана составляет $-0,15\text{‰}$, что является отражением смещения глубинных вод северной Атлантики ($\Delta^{18}\text{O} = 0,2\text{‰}$) и донных вод Антарктики ($\Delta^{18}\text{O}$ от $-0,5\text{‰}$ до $-0,3\text{‰}$). Развитие антарктического ледникового покрова в позднем плейстоцене, вероятно, было важнейшим климатологическим событием своей эпохи, повлиявшим в том числе на развитие оледенения в Северном полушарии.

В.В. Стрекопытов

Прогнозируемое увеличение количества молний в США вследствие глобального потепления

Projected increase in lightning strikes in the United States due to global warming. David M. Roms, Jacob T. Seeley, David Vollaro, John Molinari. Science. 2014. Vol. 346. No. 6211. P. 851–854.

Мощные разряды электрического тока при возникновении молний играют важную роль в атмосферных процессах: благодаря им поддерживается стабильный пул оксида азота в средних и высоких слоях атмосферы. При этом молнии оказывают влияние на форму и эволюцию экосистем, провоцируя лесные пожары и способствуя тем самым обновлению биологических сообществ. Показано, что с потеплением климата число ударов молний увеличивается на 12% при повышении среднегодовой температуры на 1°. При этом вероятность выпадения осадков в определенном регионе оказывает существенное влияние на интенсивность молний. Например, частота разрядов на единицу площади прямо пропорциональна уровню доступной конвекционной потенциальной энергии, которая напрямую определяет уровень осадков. Таким образом, обнаруживается линейная зависимость количества разрядов от интенсивности осадков. Над территорией США максимальный уровень осадков и, соответственно, частоты молний приходится на территорию Флориды и регионы, прилегающие к рекам Миссисипи и Огайо. При этом отмечено, что частота вспышек синхронизирована со временем суток (в полдень вероятность минимальна) и временем года (высокая частота весной и летом, низкая — осенью и зимой). Также количество разрядов молний максимально во время бурь и минимально в периоды затишья. Пиковые значения частоты вспышек в осенне-зимний период значительно выше, чем аналогичные значения данных показателей в весенне-летнее время. Распределение их дисперсий на протяжении сезона носит линейный характер. Например, для января, февраля и марта данный показатель составляет 69%, для апреля, мая, июня — 65%, для июля, августа, сентября — 75%, а для октября, ноября и декабря — 40%. Учитывая, что 1 мм осадков равен примерно 1 кг/м² жидкой воды, наиболее вероятная оценка высвобождающейся при этом энергии составляет порядка 1 ГДж. Данный показатель равен эффективности накопления энергии за вспышку молнии, из чего следует, что только 1% энергии, составляющей ее, берется из выпадающей в осадках воды. Уровень выпадения осадков напрямую коррелирует с изменением климата: данный показатель на протяжении XXI века должен увеличиваться в среднем на 11,2% с возможностью варьирования показателя роста среднегодовой температуры на $12 \pm 5\%$. При этом исследователи не исключают, что к концу XXI века частота вспышек молний может возрасти даже на 50% по сравнению с современным показателем.

А.Ю. Ольховик

ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Науки о Земле и смежные экологические науки

Вызванный субдукцией рециклинг литосферы континентальных окраин

Subduction-driven recycling of continental margin lithosphere. A. Levander, M. J. Bezada, F. Niu, E. D. Humphreys, I. Palomeras, S. M. Thurner, J. Masy, M. Schmitz, J. Gallart, R. Carbonell, M. S. Miller. *Nature*. 2014. Vol. 515. No 7526. P. 253–256.

В то время как связанный с субдукцией рециклинг океанической литосферы является одним из ключевых моментов в тектонике плит, рециклинг литосферы континентальных окраин изучен значительно меньше и представляется значительно более сложным процессом. Для объяснения перемещения литосферной мантии под орогенными поясами или вблизи них обычно используют понятия деляминации (механического отслоения) и даунвеллинга (погружения литосферной мантии в зонах нисходящих конвективных потоков). При этом субдукция океанической плиты может вызвать связанное перемещение примыкающей континентальной литосферы и вовлечение ее в процессы плитной тектоники. В результате изучения рисунков объемных тел сейсмических волн, полученных в ходе широкополосных сейсмических экспериментов, были обнаружены значительно большие, чем ожидалось, участки высокопроводящей мантии в районе погружения Атлантической плиты на северо-востоке Южной Америки (ю.-в. часть Карибской дуги), а также в районе погружения плиты Альборан под Гибралтарскую дугу в западной части Средиземного моря. Обнаруженные аномальные участки повторяют контуры континентальных окраин и находятся под ними на глубине более 200 км. Анализ волн Рэлея показывает, что литосферная мантия под континентальными окраинами в действительности значительно тоньше, чем думали ранее, и эта тонкая литосфера распространяется от граничащих с зонами субдукции орогенов вглубь континентов вплоть до границ ядер кратонов. Объединяя полученные данные, авторы дают описание процессов, которые могут приводить к утончению континентальной литосферы вблизи зон субдукции. Погружающиеся в зонах субдукции океанические плиты могут увлекать за собой вязкие слои нижней части литосферы континентальных окраин. В результате формируется новая топография границы раздела литосфера — астеносфера, что проявляется в поверхностной тектонике и развитии деформации континентальных окраин. Это приводит к развитию процессов вторичного даунвеллинга (вторичной конвекции) под внутренними частями континента в изученных районах как в Южной Америке, так и в западной части Средиземного моря, а также к деляминации литосферной мантии (в районе Гибралтарской дуги). Описываемый процесс похож на «абляционную субдукцию», описанную в альтернативных геодинамических моделях, где субдуцирующая океаническая плита как бы соскабливает нижний пластичный мантийный слой наезжающей континентальной плиты. Остающаяся после такого удаления базального слоя литосферная мантия континентальных окраин характеризуется плавучестью, а по составу близка к перидотитам. Предложенное описание процесса рециклинга позволяет «примирить» между собой различные, часто противоречащие друг другу, геодинамические модели, используемые для объяснения сложной тектоники зон перехода от континента к океану в районах зон субдукции.

В.В. Стрекопытов

Динамика изменений растительного покрова и его чувствительность к количеству осадков в бассейне Амазонки

Vegetation dynamics and rainfall sensitivity of the Amazon. Thomas Hilker, et al. *PNAS*. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16041–16046.

Тропические леса бассейна реки Амазонки сильно чувствительны к изменениям характера выпадения осадков, что существенно сказалось на уменьшении растительного покрова данной территории с 2000 г. Повышение температуры морской поверхности в экваториальной зоне привело к увеличению Южной осцилляции (ENSO), смещению внутритропической зоны конвергенции и увеличению количества и продолжительности периодов засухи в данном регионе. Спутниковое дистанционное зондирование является наиболее информативным способом наблюдения за пространственными и временными изменениями лесных массивов. В ходе исследования использовался модернизированный алгоритм многоугловой атмосферной коррекции (MAIAC), улучшающий точность спутниковой отражательной способности поверхности тропической растительности до 3–10 раз в сравнении с применяемой системой MODIS. Сравнение результатов межгодовых изменений нормированной разницы показателя растительного покрова (NDVI) с многофакторным анализом ENSO показало значительное снижение NDVI на 30% (территории 1,5 млн км²) бассейна реки Амазонки, в области между крайними значениями ENSO. Экологизация тропического леса была отрицательно связана с оценками осадков программы NASA TRMM: достоверные статистические значения между разностью NDVI и количеством осадков были особенно заметны в южных районах реки Амазонки, где различия между сезонами дождей и засухи более выражены. Предполагается, что в среднем интенсивность фотосинтеза выше во время сухих месяцев. В период с 2000 по 2012 гг. на территории 69,4% тропического вечнозеленого леса площадью 5,4 млн км² зафиксировано уменьшение осадков при среднем уменьшении растительного покрова на 16,6%. Однако в остальных 30,6% (2,8 млн км²) количество осадков увеличилось, либо оставалось неизменным, что не всегда приводило к увеличению лесных массивов. Уменьшение числа осадков зафиксировано на 80% территории лиственного леса (1,4 млн км²) и прилегающих лугов саванны (3,3 млн км²), где уменьшение растительного покрова составило 25 и 30%, соответственно. Снижение продуктивности тропических лесов Амазонки может существенно сказаться на уровне атмосферного CO₂, поскольку данные леса хранят порядка 120 млрд тонн углерода, что в свою очередь отразится на глобальном изменении климата. Данные по 13 годам наблюдений являются недостаточными для объяснения причин засухи с точки зрения антропогенного воздействия и создания долгосрочных моделей последствий данных явлений. Однако полученные данные позволяют заключить, что чувствительность тропической растительности к изменениям количества осадков имеет ключевое значение для оценки будущего тропических лесов Амазонки и прогнозирования уровней содержания CO₂ в атмосфере как фактора глобального изменения климата.

А.Ю. Ольховик

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

Трехмерная культура человеческих нервных клеток для моделирования болезни Альцгеймера

A three-dimensional human neural cell culture model of Alzheimer's disease. Se Hoon Choi, et al. Nature. 2014. Vol. 515. No 7526. P. 274–278.

Болезнь Альцгеймера (БА) является наиболее распространенной формой приобретенных нейродегенеративных заболеваний и характеризуется двумя ключевыми маркерами: β -амилоидными бляшками и нейрофибрилярными клубками (НК). Амилоидная гипотеза возникновения БА утверждает, что повышенное отложение β -амилоидного пептида возникает вследствие мутаций в гене белка-предшественника β -амилоида (APP) и презенилина 1 (PSEN1) и приводит к возникновению НК, которые состоят из агрегированных гиперфосфорилированных тау-белков (p -tau). Однако до сих пор не удавалось получить подходящие культуры клеток или полноценные животные модели для исследования БА. Авторам данной работы удалось создать трехмерную культуру человеческих нейрональных клеток, которая воспроизводит все патологические эффекты БА и подходит для изучения данного заболевания. Для этого были созданы нервные клетки-предшественники человека, обладающие нужными мутациями и гиперэкспрессирующие APP — ReN-mAP. Исследователи детально изучили полученные клетки: были определены уровни экспрессии мутантных генов с помощью вестерн-блоттинга, а также показано, что ReN-mAP дифференцировались в нервные и глиальные клетки. Как выяснилось далее, в двухмерных клеточных культурах секретируемый β -амилоид диффундировал в большом объеме клеточной среды, поэтому, чтобы нивелировать этот эффект и способствовать отложению β -амилоида в клетках, авторы создали трехмерную культуру, используя в качестве каркаса биоразлагаемый матрикс, содержащий высокое количество белков экстраклеточного матрикса клеток мозга. Парафиновые срезы и иммунофлуоресцентный анализ различных маркеров нервных клеток трехмерной культуры подтвердили нужный фенотип ReN-mAP клеток. Для локализации и количественной оценки отложений β -амилоида, использовали флуоресцентное окрашивание, конфокальную и электронную микроскопию. С помощью вестерн-блоттинга и др. методов авторы установили, что уровень p -tau значительно повышался в трехмерной культуре. Трансмиссионная электронная микроскопия и мечение флуоресцентными антителами позволили обнаружить скопления филаментов p -tau. Обработка ингибиторами β - или γ -секретаз (участвуют в синтезе β -амилоида) снижала агрегацию p -tau, что говорит в пользу гипотезы о том, что β -амилоид обуславливает накопление тау белка. Было также установлено, что ингибиторы гликогенсинтазыкиназы 3 β (GSK3 β), 1-азакенапаулон и SB415286 резко снижали уровни p -tau в ReN-mAP клетках, не влияя при этом на общий уровень тау белка, указывая на то, что GSK3 β участвует в регуляции тау-патии. Таким образом, авторы создали уникальную модель для изучения патогенеза БА на трехмерной культуре нервных клеток. Что наиболее важно, на данной модели удалось экспериментально подтвердить амилоидную гипотезу таупатии.

И.Н. Шандарин

Профилактика и лечение ротавирусной инфекции с помощью индукции TLR5/NLRC4-опосредованного образования интерлейкинов IL-22 и IL-18

Prevention and cure of rotavirus infection via TLR5/NLRC4-mediated production of IL-22 and IL-18. Benyue Zhang, et al. Science. 2014. Vol. 346. No 6211. P. 861–865.

Бактериальный флагеллин, основной компонент флагелл бактерий, обладает способностью активировать в клетках эпителия кишечника экспрессию генов клеточной системы защиты организма-хозяина и рассматривается как основной активатор врожденной иммунной системы в кишечнике. Индуцируемая флагеллином экспрессия генов приводит в устойчивости эпителиальных клеток кишечника и, в целом, организма мыши к различным угрозам, включая бактерии, химические вещества и радиацию. Более того, было показано, что введение препарата флагеллина приводит к уменьшению восприимчивости мышей к культивируемому штамму ротавируса. В настоящей работе авторы исследовали способность флагеллина защитить лабораторных мышей от высоко контагиозного патогенного штамма мышинного ротавируса. С этой целью они вводили взрослым мышам линии C57BL/6 мышинный ротавирус (размножаемый в культуре эпителиальных клеток) перорально в дозе, превышающей в 100 тыс. раз дозу, достаточную для инфицирования 50% мышей. Введение одной дозы флагеллина внутрибрюшинно непосредственно перед инфекцией временно предотвращало инфицирование мышей. Повторное введение флагеллина задерживало и полностью предотвращало развитие инфекции. Авторы предоставили доказательства, что применение бактериального флагеллина предотвращает распространение ротавирусной инфекции и лечит мышей, страдающих от хронической ротавирусной инфекции. Эффективность действия препарата не зависела от состояния адаптивного иммунитета и от применения интерферонов I и II типа. Однако защитная функция флагеллина обеспечивалась рецепторами флагеллина, такими как Toll-подобный рецептор 5 (TLR5). Флагеллин также распознавался NOD-подобным рецептором C4 (NLRC4), входящим в состав инфламмосомы, что приводило к опосредованному каспазой 1 образованию интерлейкина 1 β (ИЛ-1 β) и ИЛ-18. Активация TLR5 на дендритных клетках, индуцируемая флагеллином, вызывала образование цитокина ИЛ-22, который, в свою очередь, индуцировал программу экспрессии генов, обеспечивающих защиту клеток эпителия кишечника. Введение флагеллина также приводило к индукции NLRC4-зависимого образования ИЛ-18 и немедленной элиминации клеток, инфицированных ротавирусом. Обработка флагеллином приводила к понижению уровня ротавирусной РНК в первые часы после введения препарата и полному исчезновению ротавирусной РНК через двое суток. Введение ИЛ-22 и ИЛ-18 мышам полностью воспроизводило способность флагеллина предотвращать или уничтожать ротавирусную инфекцию. На основании полученных результатов авторы высказали предположение, что ИЛ-18 индуцируют сигнальные пути, ведущие к быстрому снижению уровня ротавирусной РНК, в то время как ИЛ-22 репрограммирует экспрессию эпителиальных клеток кишечника.

И.М. Мохосоев

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

Картирование индивидуальных участков инициации рекомбинации генома человека

Recombination initiation maps of individual human genomes. Florencia Pratto, et al. *Science*. 2014. Vol. 346. No 6211. P. 1256442-1–1256442-9.

Рекомбинация генов при мейозе обеспечивает обмен генетической информацией между родительскими хромосомами, что важно для образования гамет с различным набором аллельных пар. Данному событию предшествует образование определенных двуниевых разрывов, большинство из которых происходят в отдельных горячих точках рекомбинации, определяемых специфичностью связывания белка PRDM9 с ДНК. После связывания, PRDM9 может модифицировать участки хроматина в смежных регионах путем включения SPO11 в состав двуниевых разрывов. Данные разрывы восстанавливаются посредством гомологичной рекомбинации, что повышает уровень обмена участками хромосом как за счет кроссинговера, так и иных процессов. С помощью высокоточного анализа горячих точек репликации были построены карты мейотических разрывов гомологичных хромосом человеческого генома. Картирование проводилось на индивидуальных сайтах хромосом, характеризующихся специфичностью PRDM9 аллелей. В исследовании принимали участие 5 мужчин, 2 из которых были гомозиготами по аллелю PRDM9 (по наиболее распространенной форме А), а 3 — гетерозиготами (А форма и менее распространенные формы В и С). Было показано, что аллели PRDM9А и PRDM9В имеют значительное структурно-функциональное сходство, в то время как аллель PRDM9С имеет ярко выраженную специфику, являясь схожим с 17-олигомерным мотивом. При этом распространенность аллеля PRDM9А различается в отдельных группах человеческой популяции: у европейцев он составляет 84% среди данных аллелей, у африканцев — 50%. Аллель PRDM9С составляет у африканцев 13% от общего числа (1% у европейцев). Было выявлено, что гетерозиготность влияет на активность горячей точки: чем выше уровень разнообразия гомологичных хромосом, тем выше уровень вариабельности при кроссинговере. Структурные вариации, характерные для горячих точек аллеля PRDM9А, образуются путем неаллельной гомологичной рекомбинации, а также увеличением или сокращением числа tandemных повторов. В регионе двуниевых разрывов кроссинговер-подобные обмены участками гомологичных хромосом происходили с наибольшей частотой в субтеломерных областях. При этом уровень кроссинговера был прямо пропорционален частоте двуниевых разрывов. Также продемонстрировано, что горячие точки обогащены точками останова. В некоторых случаях, функционирование данных участков приводит не к уменьшению кроссинговера, а к формированию геномных заболеваний вследствие аномального обмена участками хромосом. Данное исследование имеет большое практическое значение: картирование горячих точек позволяет с большой достоверностью оценивать вклад мейотической рекомбинации в эволюцию генома.

А.Ю. Ольховик

Piezo1-обусловленная связь структуры кровеносных сосудов и направленного на них физиологического воздействия

Piezo1 integration of vascular architecture with physiological force. Jing Li, et al. *Nature*. 2014. Vol. 515. No 7526. P. 279–282.

Эндотелиальные клетки, выстилающие кровеносные сосуды, чувствительны к механо-ассоциированным биологическим процессам. Так, при давлении кровотока на эндотелий возникает сила вязкого трения (напряжение сдвига), пропорциональная скорости кровотока. Причем, в соответствии с этой величиной, клетки эндотелия способны регулировать тонус артериальных сосудов. Однако молекулярно-клеточные механизмы, посредством которых физические силы влияют на эндотелиальные клетки, до конца не изучены. Известно, что чувствительность организма к механическому воздействию определяется активацией ионных каналов, в частности входящими в их состав пьезо-белками (Piezo). Было показано, что мРНК, кодирующая Piezo1, присутствовала в аорте мышей и эндотелиальных клетках человека. А ингибирование синтеза Piezo1 *in vitro* значительно подавляло миграцию эндотелиальных клеток к ключевому стимулятору, эндотелиальному фактору роста сосудов. У мышей нарушение экспрессии эндогенного гена *Piezo1* (при дефектах в обоих аллелях) приводило к гибели их эмбрионов. Продолжительность жизни большинства таких эмбрионов составляла 9,5–11,5 дней, что соответствует критическому времени развития сосудов. При этом распределение эндотелиальных клеток, а также пространственная организация и размер сосудов во всех мутантных эмбрионах значительно отличались от этих параметров у эмбрионов дикого типа. Подобные нарушения в формировании сосудов возникали и при специфическом подавлении эндотелиального гена *Piezo1*. Исследование взаимосвязи Piezo1 и напряжения сдвига показало, что ингибирование синтеза белка приводит к уменьшению потока ионов кальция в эндотелиальные клетки человека. Наличие же активного Piezo1 является достаточным условием для функционирования ионных каналов. Кроме того, в экспериментах *in vivo* обнаружено, что Piezo1-каналы, являясь сенсорами к возникающему напряжению сдвига, определяют распределение эндотелиальных клеток, в частности, их выстраивание по направлению к напряженному участку. При исследовании механизма, связывающего активность Piezo1-каналов с напряжением сдвига, было показано, что усиление потока ионов кальция в клетку приводит к активации кальций-зависимого фермента-протеазы calpain-2. Этот фермент обеспечивает организацию эндотелиальных клеток через протеолитическое расщепление актинового цитоскелета и белков фокальной адгезии. Таким образом, Piezo1-каналы — связующее звено между физиологическими силами, действующими на сосуды и структурой сосудистой сети. Полученные данные важны для понимания физиологии кровеносных сосудов и потенциально применимы при заболеваниях, характеризующихся значительными изменениями, связанными с механическими воздействиями, то есть при атеросклерозе и злокачественных опухолях.

Н.С. Петрова

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

Клатрин восстанавливает синаптические пузырьки из эндосом

Clathrin regenerates synaptic vesicles from endosomes. S. Watanabe, et al. Nature. 2014. Vol. 515. No 7526. P. 228–233

После стимуляции синапса электрическим импульсом на плазматической мембране нейромышечных синапсов присутствует имеющий полигидральную структуру белок клатрин, который необходим, как полагают, для образования синаптических везикул, восстанавливающих мембраны синаптических пузырьков. Белки трансмембранных синаптических везикул синаптоагмин и синаптобrevин связаны с клатрином через белок-адаптер AP2. Предыдущие ультраструктурные исследования показали, что в синапсах у *Caenorhabditis elegans* и у мышей возможен сверхбыстрый эндоцитоз в отсутствие клатринового покрытия, при котором один большой эндоцитозный пузырек может восстанавливаться за 50–100 мс после слияния синаптических пузырьков. Тем не менее, судьба этих крупных пузырьков эндоцитозных не известна. В исследовании на нейронах гиппокампа крысы при помощи электронных микрофотографий было установлено, что клатриновое покрытие локализовано в основном в углублениях на поверхности клеток (реже — на синаптических мембранах). После однократной стимуляции электрическим импульсом через 50–100 мс на мембране образовывались не имеющие различимого клатринового покрытия эндоцитозные инвагинации, затем они объединялись в везикулы толщиной 80 нм. После этого начинали накапливать эндосомоподобные структуры, которые достигали максимального размера через 1 с после стимуляции. Некоторые эндосомы преобразуются в синаптические пузырьки с клатриновым покрытием через 3 с, которые, в свою очередь, становятся меньшего диаметра через 5–6 с после стимуляции. Далее функции клатрина были нарушены при помощи РНК-интерференции (RNAi) путем инфицирования культур лентивирусами, экспрессирующими содержащие короткие шпильки РНК (shRNA), связывающиеся с мРНК тяжелой цепи клатрина. Было обнаружено, что нокдаун клатрина не влияет на процесс сверхбыстрого эндоцитоза, но снижает уровень регенерации синаптических пузырьков из эндосом. При стимуляции культуры нейронов серией импульсов одной частоты показано, что сверхбыстрый эндоцитоз необходим для удаления мембраны с поверхности синапса даже при высоких частотах потенциалов действия и что клатрин функционирует на эндосомах, а не на плазматической мембране. При обработке культуры нейронов нарушающим полимеризацию актина латрункулином-А было выяснено, что при этом ультрабыстрый эндоцитоз блокируется. При отсутствии сверхбыстрого эндоцитоза синаптические пузырьки генерировались непосредственно из плазматической мембраны синапса путем клатрин-опосредованного эндоцитоза. Известно, что полимеризация актина менее эффективна при комнатной температуре. Показано, что если стимулирование нейронов происходило при 22 °С, а не при физиологической температуре 34 °С, ультрабыстрый эндоцитоз нарушался. В работе показано, что клатрин необходим даже для сверхбыстрого пути эндоцитоза, но он действует не на синаптической мембране, а в синаптической эндосоме.

П.А. Суязова

Участие кортикального ядра миндалины во врожденном обонятельном поведении

The participation of cortical amygdala in innate, odour-driven behavior. Cory M. Root, et al. Nature. 2014 Vol. 515. No 7526. P. 269–273.

Нейронные сети, опосредующие виды врожденного поведения, являются генетически предопределенными и стереотипными. Запахи могут запускать целый набор врожденных видов поведения, включая питание, размножение, замирание или убежание, т. е. реакции, существенные для выживания и размножения организма. Врожденные реакции на запахи опосредуются либо вомероназальной, либо основной обонятельной системой. Вомероназальный орган распознает нелетучие запахи, включая главные белки и стероиды мочи. Основная обонятельная система имеет дело с летучими метками, например с 2,3,5-триметил-3-тиазолином (ТМТ) — веществом из секрета лисы. Нейронные сети, передающие обонятельную информацию от сенсорного органа в корковые или подкорковые обонятельные центры, хорошо определены анатомически. Однако специфические пути, ответственные за врожденные реакции на летучие запахи, не были идентифицированы. В данной работе предлагается несколько генетических стратегий, демонстрирующих, что стереотипные нейронные сети, передающие информацию от обонятельной луковицы к кортикальному ядру миндалины, являются необходимыми для врожденных типов аверсивного и appetentного поведения. В работе использовался тест открытого поля — симметричный бокс, разделенный на четыре квадранта, каждый с независимой воздушной подачей запаха. При отсутствии запаха мыши исследовали бокс, не демонстрируя каких-либо предпочтений к определенному квадранту. А, например, добавление ТМТ приводило к достоверному избеганию одного квадранта. Каждому использованному запаху присваивался индекс предпочтения или избегания. Большинство использованных запахов оказались нейтральными. Введение аденовирусных конструкторов, кодирующих галородопсин, в обонятельные луковицы позволяло селективно подавлять активность нейронов данной структуры, что приводило к подавлению поведения избегания у мышей. Оказалось, что для подавления этого поведения достаточно подавить активность тех нейронов обонятельной луковицы, которые имеют проекции в кортикальное ядро миндалины. В данной работе также использовался промотер гена *arc* (ген, активность которого зависит от активности нейрона) для индукции экспрессии фоточувствительных ионных каналов — каналородопсинов. Каналородопсин экспрессировался в нейронах кортикального ядра миндалины, активированных запахами, опосредующими врожденные виды поведения. Оптическая активация этих нейронов вызывала специфическое поведение, которое воспроизводило реакции на врожденные запахи. Если мыши подвергались аверсивному запаху на фоне запуска экспрессии каналородопсина, то в дальнейшем фотоиндукция активности этих нейронов кортикального ядра миндалины приводила к избеганию нейтрального квадранта. Аналогичные результаты были получены для привлекательных запахов. Эти данные показывают, что кортикальное ядро миндалины играет критическую роль в генерации врожденных видов обонятельного поведения.

О.Е. Сварник

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

В отличие от неокортекса мыши, в неокортексе человека клетки радиальной глии используют сигнальный каскад PDGFD–PDGFRb

Radial glia require PDGFD–PDGFRb signalling in human but not mouse neocortex. Jan H. Lui, et al. Nature. 2014 Vol. 515. No 7526. P. 264–268.

Приобретенное в эволюции увеличение размера неокортекса человека лежит в основе многих наших уникальных умственных возможностей. Такие адаптации могли развиваться посредством изменения генетической экспрессии в клетках радиальной глии. Однако остается неизвестным, действительно ли экспрессия генов в клетках радиальной глии различается у человека и у других видов, и если да, то в чем заключаются эти различия. Поскольку пренатальные пробы человеческой коры достаточно редки, в данной работе был разработан новый метод оценки клеточно-специфичных паттернов экспрессии генов под названием анализ «генетической коэкспрессии на последовательных срезах» (GCASS) одного образца. Этот метод был применен к 150-микронным срезам одного образца человеческой коры (возраст — 14,5 недель эмбрионального развития, что соответствует пику нейрогенеза в V слое). С использованием этого подхода было идентифицировано 55 модулей коэкспрессировавшихся генов в клетках радиальной глии. 6 модулей перекрывались с тем набором генов, который экспрессировался достоверно больше у мышей в клетках радиальной глии, по сравнению с промежуточными прогениторными клетками, что предполагает, что это транскрипционный профиль радиальной глии человека. Кроме того, в данной работе было показано, что транскрипционные профили радиальной глии коры человека и мыши сохраняют сходство во время нейрогенеза, однако начинают расходиться в специфических сигнальных каскадах. Для установления более точного транскрипционного профиля радиальной глии коры человека, были использованы еще 4 набора генов, экспрессирующихся пренатально в неокортексе человека, приобретенные с использованием различных техник получения образца. Анализируя и сопоставляя коэкспрессию генов неокортекса между человеком и мышью, авторы демонстрируют, что ростовой фактор PDGFD специфичным образом экспрессируется клетками радиальной глии у человека, но не у мыши, в период созревания коры. Также было показано, что экспрессия домена PDGFRb, родственного рецептора ростового фактора PDGFD, эволюционно дивергентна: высокая экспрессия в зародышевой области дорзальной коры человека, но не мыши. Фармакологическое подавление сигнального каскада PDGFD–PDGFRb на переживающих срезах предотвращает нормальное течение клеточного цикла радиальной глии неокортекса человека, но не мыши. И, наоборот, в случае введения рекомбинантного PDGFD или эктопической экспрессии постоянно активного PDGFRb в развивающейся коре мыши происходит увеличение пропорции радиальной глии и ее субвентрикулярное распространение. Эти данные подчеркивают значение сигнального каскада PDGFD–PDGFRb для развития коры человека и предполагают, что локальное производство ростовых факторов клетками радиальной глии поддерживает расширение зародышевой области.

О.Е. Сварник

Активируемый ангиотензином II сигнальный путь предотвращает деградацию WNK4 за счет фосфорилирования белка Kelch-like 3 протеинкиназой C

Angiotensin II signaling via protein kinase C phosphorylates Kelch-like 3, preventing WNK4 degradation. Shigeru Shibata, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 43. P. 15556–15561.

Исследования менделевской формы артериальной гипертензии показали ключевую роль повышенной реабсорбции солей в почках и увеличенного содержания ионов калия в кровотоке (гиперкалемии) в развитии заболевания. Известно, что к развитию подобных патологий приводят доминантные мутации в генах серин-треониновых протеинкиназ WNK1 и WNK4, а также белков куллина 3 (CUL3) и Kelch-Like 3 (KLHL3) — элементов убиквитин-лигазного комплекса. Киназа WNK4 модулирует активность ряда ионных каналов, участвующих в регуляции водно-солевого обмена в почках. CUL3/KLHL3 обеспечивают убиквитинилирование и разрушение WNK4. Мутации, приводящие к развитию заболеваний, как в киназе WNK4, так и в убиквитинилирующих ее белках, препятствуют их связыванию и деградации WNK4. Вероятно, и в норме взаимодействие данной протеинкиназы с CUL3/KLHL3 подвержено строгой регуляции, что является основным предметом изучения данной работы. Авторами было установлено, что выделенный из культуры клеток белок KLHL3 частично фосфорилирован по остатку серина 433, что препятствует связыванию белка с WNK4 и предотвращает деградацию последнего. Интересно, что одна из мутаций, приводящих к развитию такой формы гипертензии, локализована в том же сайте и фенокопирует фосфорилирование S433. Ранее было показано, что ангиотензин II (AII) — гормон, выделяющийся при истощении объема жидкости в организме, — регулирует активность WNK4. Авторы работы предположили, что регуляция осуществляется за счет фосфорилирования KLHL3. Действительно, на модельных клеточных линиях было показано, что инкубация с AII повышает количество определяемого вестерн-блоттингом фосфорилированного белка KLHL3. Методами биоинформатики предсказали, что содержащий S433 мотив в KLHL3 является возможным сайтом фосфорилирования для протеинкиназы C (PKC), которая активируется при связывании AII с его рецептором AT1R. При добавлении ингибиторов PKC соответственно снижалось AII-зависимое фосфорилирование KLHL3. На очищенных белках PKC- α , PKC- β , PKC- ϵ и KLHL3 показали, что изоформы PKC- α и PKC- β непосредственно фосфорилируют белок KLHL3 по S433. Установленный механизм регуляции подтвердили, обрабатывая AII клетки HEK, в которых коэкспрессировали AT1R, WNK4 и KLHL3. На мышах линии C57BL/6 показали, что инфузия AII приводит к 1,5-кратному повышению уровня WNK4 в клетках почечного эпителия без изменения уровня KLHL3. Таким образом, был установлен механизм, приводящий к повышению уровня протеинкиназы WNK4 под действием AII за счет PKC-опосредованного фосфорилирования KLHL3. Активация WNK4 приводит к усилению реабсорбции соли в почечных канальцах и уменьшению секреции ионов калия. Следовательно, эффект ангиотензина II фенокопирует патологические изменения при менделевских формах артериальной гипертензии.

Е.П. Барыкин

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

Структурные основы и дистальные эффекты коэволюции Gag-субстрата при лекарственной устойчивости к протеазе ВИЧ-1

Structural basis and distal effects of Gag substrate coevolution in drug resistance to HIV-1 protease. Aysegül Özen, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 15993–15998.

Возбудители вырабатывают устойчивость под воздействием селективного давления различных лекарственных средств. Обычно это происходит путем образования мутаций точки приложения терапии. Большинство таких мутаций возникает рядом с участком связывания препарата или же другими ключевыми участками. В то же время свой вклад в устойчивость к лекарству вносят и мутации в белках, не имеющих прямого отношения к его действию. В случае ВИЧ-1, мутации гена ключевой протеазы образуют устойчивость к ингибиторам протеаз (PIs), а так же коррелируют с появлением мутаций в других местах в Gag. В настоящее время существуют 9 PIs, одобренных FDA для применения в клинических целях, включая препараты для высокоактивной антиретровирусной терапии, а так же все конкурентные ингибиторы связывания активного центра. Протеазы ВИЧ-1 являются ключевыми мишенями антивирусной терапии в связи с их основной функцией, заключающейся в процессинге Gag и Gag-Pol полипротеинов во время созревания вируса. Под селективным давлением видов лечения, включающих PIs-терапию, возникают вирусные варианты с мутациями, ухудшающими эффективность ингибиторов. Несмотря на это, субстраты протеаз остаются гидролизованной, смещая баланс между связыванием ингибитора и субстрата в пользу последнего. Предыдущие работы авторов описывают молекулярные детерминанты данного баланса и предлагают гипотезу субстратного «конверта» для объяснения молекулярных механизмов устойчивости. Среди первичных мутаций протеаз, I50V обычно наблюдается у пациентов с терапией ампренавиром (APV) и дарунавиром (DRV). Доступ субстрата или ингибитора к активному центру протеазы регулируется гибкой петлей, на конце которой находится остаток 50. Кроме образования устойчивости к PIs, мутация I50V так же ухудшает процессинг субстрата. Потеря эффективности катализа из-за I50V компенсируется вторичными мутациями, в частности A71V, которая наблюдается более, чем в 50% случаев. Некоторые мутации в Gag как внутри участков расщепления, так и в других местах коэволюционируют вместе с мутациями первичных протеаз, держа вирус «в тонусе». В частности, мутации в сайтах расщепления P1-P6 связаны с мутацией I50V. Мутация Gag L449F увеличивает протеазную активность в десять раз, в то время как P453L, несмотря на удаленность от каталитического сайта, вызывает двадцатитрехкратное усиление. Тем не менее, молекулярные основы связи этих «компенсирующих» мутаций еще не ясны. Авторы статьи продемонстрировали структурную основу коэволюции I50V/A71V протеазы с P1-P6-участками. Мутации Gag L449F и P453L через образование серии кристаллических структур увеличивают ван-дер-ваальсовы взаимодействия между субстратом и мутантными протеазами, а в R452S, в свою очередь, образуют дополнительную водородную связь.

А.И. Ташкеев

Митофузин-2-зависимая инактивация Opa1 связана с изменениями митохондриальных крист и контактов с ретикуломом в постпрандиальных клетках печени

A Mitofusin-2-dependent inactivating cleavage of Opa1 links changes in mitochondria cristae and ER contacts in the postprandial liver. Aditi Sood, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16017–16022.

Митофузин-2 (Mfn2), ГТФаза слияния митохондрии с эндоплазматическим ретикуломом (ER), и ГТФаза «атрофии оптического нерва» (Opa1) управляют структурой митохондрии; дефицит двух ГТФаз приводит к эмбриональной летальности. Opa1 регулирует слияние митохондрий и архитектуру крист. Его дефицит в клетках приводит к нарушению сборки комплексов дыхательной цепи и потере крист. Протеаза внутренней мембраны Opa1 может расщеплять Opa1 и способствовать фрагментации митохондрии. Дефицит Opa1 не летален, но приводит к ожирению мышей. Комплекс мишени рапамицина 1 (mTORC1) является сенсором аминокислот, который регулирует биогенез митохондрий и позволяет подстроить метаболизм под статус питания. В работе изучена пластичность митохондрий, изменение структуры крист и контактов с ER (MERC) при поддержании постоянства метаболизма в клетках печени мышей *in vivo*. Обнаружено, что в гепатоцитах активность mTORC1 присутствует через 2 ч после приема пищи мышами, а у большинства мышей она теряется через 5 ч. Криоэлектронной микроскопией через 5 ч после еды при низком уровне фосфо-S6 наблюдалась фрагментация митохондрий, по сравнению с митохондриями с высоким уровнем фосфо-S6, где она наблюдалась через 2 ч (увеличение количества органелл на 25%, уменьшение размера и более округлая форма), а также потеря крист (уменьшение плотности на 30%, до 3,7 мкм/мкм²). Падение активности mTORC1 через 5 ч сопровождалось 20% уменьшением скорости потребления кислорода в состоянии 3 дыхания при использовании пирувата и малата, а также двукратным увеличением средней длины каждого MERC (до 270 нм). Вестерн-блоттингом обнаружено, что через 5 ч при низком уровне фосфо-S6 могут появляться две С-концевые формы Opa1 CTF-1 и CTF-2 (78 и 48 кДа), которые не обнаруживаются при высоком уровне фосфо-S6. На митохондриях, изолированных из мышинных эмбриональных *Mfn2*^{-/-} фибробластов, показано участие Mfn2, но не Mfn1, в отщеплении CTF-1 от Opa1 и понижении уровня фосфо-S6 через 10 мин после применения рапамицина. На пермеабелизованных митохондриях *in vitro* показана деградация Opa1 до CTF неизвестной цистеиновой протеазой (подавляется классическими ингибиторами), отличной от Opa1 и кальпаина-1. Картированием эпитопов, анализом *in silico* и сайт-направленным мутагенезом обнаружен сайт RNL (542–544), по которому идет отщепление Opa1 с образованием CTF-2, и сайт образования CTF-1 RML (885–887). CTF теряли активность нативного Opa1 из-за диссоциации от ГТФазного домена; повышенная экспрессия CTF-Flag в клетках HeLa и COS7 не влияла на морфологию митохондрий. Митохондрии адаптируются к постпрандиальному периоду и потере mTORC1 сигнализации путем активации Mfn2-зависимой деградации Opa1 и параллельной реорганизации MERC и архитектуры крист.

В.Н. Колядко

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

Участие отдельных клеточных линий макрофагов в различных механизмах восстановления и структурной перестройки миокарда новорожденных и взрослых

Distinct macrophage lineages contribute to disparate patterns of cardiac recovery and remodeling in the neonatal and adult heart. Kory J. Lavine, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16029–16034.

В данном исследовании была предложена гипотеза о том, что определяющими в восстановлении тканей являются неизвестные различия макрофагов разных типов. Для проверки гипотезы использовали генетическую систему селективного уничтожения кардиомиоцитов, основанную на экспрессии в них рецептора дифтерийного токсина. Смертность мышей была обратно пропорциональна возрасту. Удалось показать, что в ответ на травму у взрослых мышей в сердце накапливаются CCR2⁺-макрофаги, происходящие из моноцитов, а у новорожденных расширяется популяция CCR2⁻-макрофагов, локализующихся в сердце. Методом отслеживания клеточных поколений удалось доказать, что эти макрофаги образуются при гемопоэзе в желточном мешке. Оценка уровня экспрессии генов хемокинов и цитокинов методом количественной ПЦР показала, что эти макрофаги в наименьшей степени провоцируют воспаление. При изоляции и стимуляции липополисахаридами и АТФ они значительно менее интенсивно секретировали фактор некроза опухоли ФНО α и интерлейкин 1 β по сравнению с CCR2⁺-макрофагами. Подтвердилось, что они стимулировали восстановление тканей через усиленную пролиферацию кардиомиоцитов и ангиогенез. Подобные макрофаги были найдены в здоровом сердце и у взрослых мышей. Однако при травме эти клетки замещались макрофагами моноцитарного происхождения с повышенным уровнем экспрессии ряда цитокинов, стимулирующими воспаление и почти не проявляющими восстановительных эффектов: плотность сосудов и число кардиомиоцитов увеличивались незначительно. Только эти макрофаги экспрессировали белок хемотаксиса моноцитов MCP1 и интерлейкин 6. В ответ на травму в сердце у взрослых мышей (в отличие от новорожденных) были выявлены усиленные процессы окисления. Значение восстановительного потенциала эмбриональных макрофагов подтверждается эффективным восстановлением функции сердца новорожденных мышей после травмы, вызванной инъекциями дифтерийного токсина. У взрослых при этом возрастала масса левого желудочка, тогда как у новорожденных мышей перестройки в нем не наблюдалось, а через 6 дней после повреждения эхокардиографическое исследование выявило нормализацию работы левого желудочка. Гипертрофия кардиомиоцитов и фиброз почти не наблюдались. У взрослых патологические эффекты лишь усугублялись со временем. Подавление накопления CCR2⁺-макрофагов взрослых с помощью селективного ингибитора CCR2 после травмы сердца способствовало сохранению популяции эмбриональных макрофагов и ангиогенезу и препятствовало нейтрофильной инфильтрации. Полученные результаты позволяют считать макрофаги эмбрионального происхождения ключевыми участниками восстановления тканей сердца и говорят о перспективности методов лечения заболеваний сердца с селективным воздействием на тот или иной тип макрофагов.

А.Л. Братцева

Регуляция уровня интерлейкина 10 в патогенных Th-17-клетках при фатальном альфавирусном энцефаломиелите

Interleukin 10 modulation of pathogenic Th17 cells during fatal alphavirus encephalomyelitis. Kirsten A. Kulcsar, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16053–16058.

Известно, что гибель нейронов при фатальном альфавирусном энцефаломиелите опосредована иммунным ответом, однако до сих пор не определены типы участвующих клеток и механизмы их регуляции. В данном исследовании показано, что индуцируемый вирусом воспалительный ответ у мышей сопровождается выработкой регуляторного цитокина — интерлейкина 10 (ИЛ-10). В его отсутствие паралич развивается раньше, а мутантные мыши погибают, в среднем, на 8-й день, тогда как особи дикого типа на 10-й. Сравнение иммунного ответа в ЦНС мышей с нокаутом гена ИЛ-10 и дикого типа не выявило различий в интенсивности воспалительных процессов в головном мозге и размножения вируса. В обоих случаях, инфильтрация иммунных клеток в ЦНС заметно усиливалась на 7-й день после инфекции. У мутантных мышей в инфильтрате преобладали нейтрофилы, а у дикого типа моноциты и макрофаги. Связывание нейтрофилов антителами к Ly6G непосредственно после инфекции или 4 дня спустя не повлияло на течение болезни. Таким образом, различия в типах и числе инфильтрирующих ЦНС иммунных клеток не объясняют повышенную чувствительность мутантных мышей к инфекции. Интерферон- γ , гранзим В и фактор некроза опухоли α (ФНО α) экспрессировались CD8⁺-Т-лимфоцитами в равной мере у мутантных мышей и дикого типа на 7-й день после инфекции. Th1 и Th17-клетки, образующиеся из CD4⁺-Т-лимфоцитов при экспрессии определенных транскрипционных факторов и цитокинов, участвующие в развитии аутоиммунных заболеваний ЦНС, также представляют интерес в контексте данного исследования: у мышей, лишенных ИЛ-10. Обнаружена усиленная инфильтрация CD4⁺ИЛ-17A⁺ и CD4⁺ИЛ-17A⁺IFN γ ⁺-клеток в спинном и головном мозге по сравнению с диким типом. Интерлейкин 17а характерен для Th17-клеток, а интерферон- γ для Th1-клеток. При этом уровень мРНК хемокина CCL20, специфичного для Th-17-клеток, был повышен только в спинном мозге. Th-17-клетки, инфильтрирующие головной мозг, обладали патогенным фенотипом: в них вырабатывались гранзим В, интерлейкин 22 и GM-CSF (важнейший фактор повреждения нейронов и накопления миелоидных клеток), причем отсутствие ИЛ-10 способствовало формированию этого фенотипа. Также, помимо характерного для Th-17-клеток фактора ROR γ t, в них экспрессировался транскрипционный фактор Tbet, обеспечивающий их дифференцировку в многофункциональные патогенные клетки типа Th1/Th17 и приводящий к обострению патологических симптомов. У дикого типа Th1/Th17-клетки присутствовали в небольшом количестве: большинство экспрессировали лишь один из характерных транскрипционных факторов. Таким образом, было показано, что Th17-клетки поступают в ЦНС одновременно с началом проявления нейрпатологических симптомов смертельного альфавирусного энцефаломиелита. В отсутствие ИЛ-10 они накапливаются в ней раньше и чаще развиваются в Th1/Th17-клетки.

А.Л. Братцева

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

Инфламмосомы человека, содержащие NLRP3, распознают различные типы бактериальных РНК

Human NLRP3 inflammasome senses multiple types of bacterial RNAs. Wenwen Sha, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16059–16064.

Инфламмосомы — сложные белковые комплексы, активирующие каспазу 1. Ее активация необходима для созревания и секреции провоспалительных цитокинов — интерлейкинов 1 β и 18. В данной работе была рассмотрена активация инфламмосом человека бактериальными мРНК, тРНК и рРНК. РНК выделяли из различных бактерий, как грамположительных, так и грамотрицательных. Выделенными РНК активировали макрофаги моноцитарного происхождения человека как в присутствии, так и в отсутствие липопептида. Трансфекция РНК всех типов с использованием липопептида привела к секреции макрофагами интерлейкинов 1 β и 18. В отсутствие липопептида этого эффекта не наблюдалось. Таким образом, бактериальные РНК распознавались в цитозоле. Вызванная трансфекцией секреция интерлейкинов макрофагами человека, образованными из моноцитов и ТНР1-клеток линии острого моноцитарного лейкоза, почти полностью блокировалась смесью РНКаз, расщепляющих одноцепочечные РНК на 3'-конце. Это наблюдение свидетельствует о том, что инфламмосомы активировались именно РНК, а не другими агентами, и подтверждается тем, что суммарная РНК *Escherichia coli*, в том числе и при обработке ДНКазой, но не РНКазой вызывает секрецию интерлейкинов и созревание каспазы 1 в макрофагах, происходящих от ТНР1-клеток. Путем транскрипции *in vitro* были получены мРНК, тРНК, 23s, 16s и 5s рРНК *E. coli*. Ими активировали макрофаги костномозгового происхождения мыши и моноцитарного происхождения человека и измеряли уровень секреции интерлейкинов 1 β и 18. Инфламмосомы макрофагов мышей активировались только мРНК, что согласуется с литературными данными. У человека инфламмосомы активировались всеми рассмотренными типами РНК, что подтверждается отсутствием этого эффекта при добавлении РНКаз и при введении синтетического полиурацила. Аналогичные закономерности были выявлены для изолированной с помощью денатурирующего геля суммарной нативной РНК *E. coli*. Инфламмосомы в макрофагах, происходящих от ТНР1-клеток, удалось активировать суммарной РНК *E. coli* даже в присутствии щелочной фосфатазы, удаляющей трифосфатную группу с 5'-конца, реагентов, расщепляющих РНК на фрагменты по 60–200 оснований, или РНКазы III, расщепляющей двухцепочечную РНК на фрагменты по 12–15 оснований, а также при тепловой денатурации. Таким образом, наличие трифосфатной группы на 5'-конце и структура РНК не играют роли в активации инфламмосом. Также было показано, что синтетическая одноцепочечная РНК с последовательностью 20G эффективно активирует NLRP3-инфламмосомы у человека, но не обладает этим эффектом у мышей. Нокаут генов белков NLRP3, ASC и каспазы 1 с помощью коротких шпилечных РНК в макрофагах, происходящих от ТНР1-клеток, привел к блокированию секреции интерлейкинов 1 β и 18, что говорит о необходимости сигнального пути с участием этих белков для активации инфламмосом.

А.Л. Братцева

Нарушение метаболизма DICER1/Alu-РНК вызывает опосредованную каспазой 8 гибель клеток при возрастной макулярной дегенерации

DICER1/Alu RNA dysmetabolism induces Caspase-8-mediated cell death in age-related macular degeneration. Y. Kim, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16082–16087.

Недавно установленная роль фермента DICER1 (разновидность рибонуклеазы III) белка состоит в обработке первичных транскриптов РНК гена *Alu* для предотвращения их цитотоксического накопления в пигментном эпителии сетчатки (ПЭС). Известно, что у людей с географической атрофией, приводящей к необратимой слепоте, уровень белка DICER1 в ПЭС снижен. Дефицит фермента DICER1 индуцирует накопление цитотоксических РНК *Alu*, которые, в свою очередь, индуцируют TLR-независимую активацию инфламмосомы NLRP3. NLRP3, представитель подсемейства NLR (NOD-подобных рецепторов), участвует в индукции иммунной реакции и активируется, когда клетка подвергается воздействию различных агентов. Активация каспазы 1 является известным результатом деятельности активированной инфламмосомы NLRP3 и требуется для превращения про-ИЛ-1 β и про-ИЛ-18 в их активные формы. Тем не менее, не выяснено, как опосредуется гибель клеток ПЭС при развитии заболевания. В этом исследовании определено участие каспазы 8 в качестве важнейшего посредника дегенерации этих клеток. В работе показано, что дефицит DICER1, накопление РНК *Alu* и позитивная регуляция ИЛ-18 приводят к гибели клеток ПЭС при активации каспазы 8 через Fas-лиганд-зависимый механизм. Наблюдалось увеличение общего уровня каспазы 8 в клетках ПЭС у людей с географической атрофией по сравнению с людьми того же возраста, имеющими здоровые глаза. Далее было выяснено, что устранение гена *Dicer1* приводило к накоплению РНК *Alu* и вызывало активацию каспазы 8 в ПЭС у мышей. Также показано, что нокаут каспазы 8 у мышей защищает ПЭС от цитотоксического эффекта РНК *Alu*. Выявлено, что ген каспазы 8 является критическим медиатором индуцируемой ИЛ-18 дегенерации ПЭС. Так как известно, что для активации каспазы 8 требуется расщепление про-каспазы 8 при связывании Fas-рецептора с Fas-лигандом (FasL), показано, что Fas и FasL необходимы для опосредуемой РНК *Alu* и ИЛ-18 цитотоксичности в ПЭС: у *Fas*^{-/-} и *FasL*^{-/-} мышей дегенерация ПЭС была заблокирована. Также найдено, что РНК *Alu* индуцирует активацию *in vivo* каспазы 3 в ПЭС у мышей дикого типа, а активация каспазы 3 блокируется пептидным ингибитором каспазы 8. Эти данные свидетельствуют о том, что каспаза 8 является связующим звеном между каспазой 1 и каспазой 3 в сигнальном пути индуцируемой *Alu* РНК гибели клеток. Кроме того, исследователи обнаружили, что некростатин 1 (ингибитор некроптоза), не обеспечивая защиту от индуцированной *Alu* РНК дегенерации ПЭС. Таким образом, в работе представлены доказательства того, что каспаза 8, связанная с дегенерацией ПЭС человеческого глаза при географической атрофии, опосредуется индуцированной РНК *Alu* каспазой 1, являясь посредником непирипотической гибели клеток, следующей за активацией инфламмосомы NLRP3.

П.А. Суязова

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

Регуляция CD112 белком gD альфагерпесвируса подавляет DNAM-1-зависимый лизис инфицированных клеток, опосредованный NK-клетками

Modulation of CD112 by the alphaherpesvirus gD protein suppresses DNAM-1-dependent NK cell-mediated lysis of infected cells. Korneel Grauwet, et al. PNAS 2014. Vol. 111. No 45. P. 16118–16123.

Способы уклонения от контроля NK-клетками альфагерпесвирусов (крупнейшего подсемейства герпесвирусов) изучены недостаточно. В данном исследовании рассмотрены уникальные пути ухода от иммунного надзора с участием гликопротеина gD вирусов этого подсемейства. Для исследования влияния экспрессии gD на распознавание и лизис клеток натуральными киллерами клетки 293T (почки эмбриона человека) инфицировали вирусами псевдобешенства дикого типа и лишенным гена gD. Тем не менее, gD необходим для проникновения вируса в клетку-хозяина, поэтому популяция мутантных вирусов была получена в присутствии экспрессирующих его клеток; таким образом, он присутствовал в их оболочке. Клетки 293T инкубировали с NK-клетками, активированными интерлейкином 2 и оценивали их выживаемость методом поточной цитометрии. Так было показано, что клетки, инфицированные вирусом дикого типа более устойчивы к атаке натуральных киллеров. При этом уровни экспрессии других вирусных белков и молекул MHC1 при инфекции мутантом и вирусом дикого типа не различались, что говорит о независимости выживания клеток от этих белков. Трансфекция клеток 293T gD-кодирующим вектором также снизила их предрасположенность к лизису, так как препятствовала дегрануляции NK-клеток: поточная цитометрия выявила пониженный уровень поверхностной экспрессии маркера дегрануляции CD107a. Таким образом, gD ослабляет цитотоксичность NK-клеток. Известно, что этот белок также связывается с белками CD112 и CD155, участвующими в активации NK-клеток. По данным вестерн-блоттинга экспрессия гена gD при инфекции вирусом псевдобешенства и трансфекции значительно не повлияла на поверхностную экспрессию CD155, но приводила к деградации CD112, лиганда DNAM-1, активирующей рецепторы NK-клеток молекулы. Эксперименты в присутствии и в отсутствие ингибитора закисления BFLA-1 доказали зависимость этой деградации от закисления. Методом поточной цитометрии удалось установить, что подавление CD112 препятствует связыванию DNAM-1 с поверхностью инфицированных и трансфицированных последовательностью gD клеток. Аналогичные результаты были получены и при инфицировании клеток почек свиньи. Экспрессия gD оболочки вируса простого герпеса типа 2 также препятствовала дегрануляции NK-клеток и опосредованному ими лизису инфицированных клеток 293T и U87-MG линии злокачественной глиобластомы человека. Белок gD, вероятно, оказывает супрессивное действие и на другие иммунциты, так как DNAM-1 экспрессируется при вирусной инфекции во многих типах клеток. Результаты исследования объясняют механизм ухода альфагерпесвирусов от контроля NK-клеток и говорят о значении взаимодействия белков оболочки вируса и рецепторов клетки-хозяина. Полученные данные могут быть использованы для усовершенствования терапевтических вирусных векторов и вакцин против этих вирусов.

А.Л. Братцева

Роль снижения содержания белка NUP62 и перераспределения белка PYK2 в ретракции дендритов вследствие хронического стресса

Role for NUP62 depletion and PYK2 redistribution in dendritic retraction resulting from chronic stress. Yayoi Kinoshita, et al. PNAS. 2014 Vol. 111. No 45. P. 16130–16135.

Показано, что хронический психосоциальный стресс и иммобилизационный стресс, вызванный ограничением движений, вызывает ретракцию апикальных дендритов и упрощение ветвления дендритов нейронов гиппокампа. Также известно, что хронический стресс, который может спровоцировать депрессию, вызывает не только изменения в структуре, но и в пластичности апикальных дендритов, причем эти изменения особенно заметны в области CA3 гиппокампа. Механизмы, лежащие в основе изменений ветвления дендритов, в настоящее время до конца не изучены. Известно, что при стрессе гиппокампальные нейроны характеризуются повышенной активностью возбуждающих аминокислот, модификациями белков цитоскелета, изменениями в экспрессии нейротрофических факторов, а также модификациями активности их рецепторов. Также известно, что при большинстве депрессивных состояний количество транскриптов нуклеопорина р62 (NUP62) снижается в префронтальной коре. Нуклеопорины осуществляют клеточно-специфичные функции. В частности, селективный транспорт между цитоплазмой и ядром, осуществляемый через комплекс пор, опосредуется нуклеопоринами, содержащими FG-повторы (F-фенилаланин, G-глицин), и находящимися в центральном канале и в ассиметричных кольцевых структурах. В данной работе с использованием метода афинной очистки транслирующих рибосом (TRAP) было показано селективное снижение транслированных транскриптов Nup62 в области CA3 гиппокампа хронически стрессированных мышей. Было также обнаружено, что у хронически стрессированных крыс уменьшено содержание белка Nup62 в ядрах нейронов гиппокампа. В культуре клеток было показано, что фосфорилирование PYK2 (FAK) сайта в альфа-спиральном домене белка NUP62 (у человека Y422) связано с отделением белка NUP62 от ядерного комплекса пор и/или сохранением белка NUP62 в цитоплазме. Увеличенные уровни фосфорилирования белка Nup62 наблюдались в цитоплазматических фракциях гиппокампа у крыс с хроническим стрессом, при этом удалось обнаружить перераспределение активированных Pyk2 в околоядерную область пирамидных нейронов. Удаление белка Nup62 из культуры эмбриональных (18 день) гиппокампальных и корковых нейронов приводило к ретракции дендритов и упрощению ветвления дендритов, без нарушения целостности начального сегмента аксона. При хроническом стрессе, по крайней мере, два механизма вносят свой вклад в снижение содержания белка NUP62 в пирамидных нейронах области CA3 гиппокампа: один механизм оказывает воздействие на экспрессию, а другой связан с функцией ядерного комплекса пор. Совместное действие этих двух механизмов может лежать в основе повышенной реакции апикальных дендритов области CA3 на хронический стресс. Этот процесс может носить либо патогенный характер, либо являться механизмом защиты нейронов CA3 от необратимого повреждения.

О.Е. Сварник

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

Индивидуальные различия периферической иммунной системы определяют различную восприимчивость к социальному стрессу

Individual differences in the peripheral immune system promote resilience versus susceptibility to social stress. Georgia E. Hodes, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16136–16141.

Депрессия и тревожность часто ассоциированы с увеличением выработки цитокинов эффекторными клетками иммунной системы в периферических депо. Например, показано, что искусственное введение провоспалительных цитокинов вызывает у человека «болезненное поведение», симптоматически напоминающее депрессию. Однако механизмы данных процессов до сих пор изучены недостаточно. В данном исследовании рассматривалось различие в уровнях реакции на стресс в зависимости от изначальных различий в чувствительности периферической иммунной системы при использовании модели социального стресса на мышах. Цитокины можно было обнаружить в крови животных через 20 мин после первого стрессорного воздействия. При этом секреция интерлейкина 6 поднималась до высоких значений только у мышей, восприимчивых к действию стрессора. Повышенная секреция интерлейкина 6 у данных мышей сохранялась на протяжении по меньшей мере месяца при хроническом стрессе. Также было показано, что при действии стрессора возрастает продукция стресс-протекторных веществ: интерлейкина 10 и хемокинов CXCL1 и CCL2. При этом интерлейкин 6 при своих высоких концентрациях блокирует их действие. Полученные результаты были подтверждены на двух группах людей с хроническим депрессивным расстройством, устойчивым к действию терапевтических процедур. Для коррекции чувствительности периферического отдела иммунной системы животных от состояния, определяющего депрессию, к антидепрессантному, у стресс-чувствительных мышей были взяты образцы костного мозга. Данные фрагменты пересаживались химерам. Кроме того, химерам также пересаживались образцы костного мозга от нокаутных мышей по интерлейкину 6. Было показано, что химеры от стресс-чувствительных мышей демонстрировали высокий уровень социального избегания после того, как на них действовали подпороговой величиной стрессора (т. е. незначительно увеличивали число особей на единицу объема). При этом химеры, которым трансплантировали костный мозг от стресс-устойчивых мышей, демонстрировали высокий уровень сопротивления стрессу, по аналогии с самими нокаутными мышами. При этом было показано, что введение моноклональных антител к интерлейкину 6 также приводило к ослаблению действия стрессора на организм. Данное исследование показало ключевую роль действия интерлейкина 6 на процессы развития стресс-чувствительности, что имеет большое значение для клинических разработок средств, направленных на стресс-протекторный эффект.

А.Ю. Ольховик

Выявление повреждений нерва на уровне эндоплазматического ретикулума аксонов: активированный в аксоне белок Luman/CREB3 обеспечивает ретроградный регенераторный сигнал

Sensing nerve injury at the axonal ER: Activated Luman/CREB3 serves as a novel axonally synthesized retrograde regeneration signal. Zhengxin Ying, et al. PNAS. 2014. V. 111. No 45. P. 16142–16147.

Информация о повреждении аксонов должна быть каким-то образом ретранслирована обратно к телу клетки для осуществления перепрограммирования функционирования нейрона, которое осуществляется при переходе нейрона в состояние регенерации. Ретроградные сигналы могут включать в себя как активацию уже существующих транскрипционных факторов, так и новый синтез транскрипционных факторов внутри аксона. Ранее было идентифицировано большое количество мРНК разных транскрипционных факторов в аксонах поврежденного нерва, что подтверждает, что они могут служить ретроградными сигналами регенерации, связывающими отдаленные части аксона и ядро клетки. Было показано, что транскрипционный фактор Luman (также называемый CREB3), являющийся трансмембранным белком с доменом «лейциновая застёжка» (bZIP), обнаруживается как в соматическом, так и в аксональном эндоплазматическом ретикулуме сенсорных нейронов спинномозговых ганглиев. Однако ранее не было доказано, что Luman обнаруживается при анализе транскриптомы поврежденных сенсорных аксонов. В данном исследовании использовали культуры клеток спинномозгового ганглия либо поврежденные *in vivo* 24 часа назад и получившие ретроградные сигналы о повреждении, либо контрольные без повреждения. Оказалось, что повреждение аксона вызывало синтез транскрипционного фактора Luman в аксоне и также приводило к высвобождению транскрипционно активного N-конца белка Luman в аксональном эндоплазматическом ретикулуме. Было также установлено, что исчезновение Luman из поврежденных аксонов не связано с деградацией белка. Оказалось, что Luman транспортируется к телу клетки посредством белка импорта. Визуализация активации и ретроградной транслокации транскрипционного фактора Luman в ядро была продемонстрирована в реальном времени как *in vivo*, так и *in vitro*. Визуализация осуществлялась с помощью специально сконструированного аденовирусного вектора. Введение малых интерферирующих РНК, использованных для уменьшения экспрессии Luman либо в нейронах, либо только в аксонах нейронов, существенно нарушало способность поврежденных сенсорных нейронов формировать регенерационный вариант аксонального роста. В то же время они не оказывали влияния на рост аксонов неповрежденных нейронов. Таким образом, в данной работе было установлено, что Luman, как транскрипционный фактор, локализуемый в эндоплазматическом ретикулуме аксонов, может опосредовать передачу стрессовых сигналов от места повреждения аксона к телу клетки. Все эти полученные данные связывают между собой индуцированную повреждением реакцию аксонального эндоплазматического ретикулума и внутреннюю, опосредуемую ядром, способность взрослых сенсорных нейронов к регенеративному росту.

О.Е. Сварник

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

Активируемые растяжением ионные каналы Piezo1 определяют выбор пути дифференцировки стволовых клеток нервной системы человека

Stretch-activated ion channel Piezo1 directs lineage choice in human neural stem cells. Medha M. Pathak, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16148–16153.

Одним из препятствий к успешной имплантации стволовых клеток нервной системы при терапии нервных расстройств является невозможность управлять направлением дифференцировки трансплантированных клеток. Стволовые клетки нервной системы являются мультипотентными: они могут дифференцироваться в нейроны, астроциты или олигодендроциты. Направление клеточной дифференцировки очень чувствительно к механическим воздействиям внешней клеточной среды. Однако молекулярные каскады, связывающие механические сигналы матрикса с внутриклеточными каскадами, приводящими к клеточной дифференцировке, остаются неизвестными. Известно, что ионные каналы, напрямую или опосредовано, вовлечены в трансформацию всех форм физических стимулов, включая звук, свет, температуру, механические силы, и даже гравитацию, во внутриклеточные сигнальные каскады. В данной работе изучались претендующие на эту роль катионные каналы, активируемые растяжением (SACs). Известно, что данные каналы детектируют приложение механических сил, обладают высокой чувствительностью к механическим силам и являются проницаемыми для ионов кальция. Роль активируемых растяжением каналов проверялась для стволовых клеток нервной системы, для которых известно, что механические сигналы могут определять выбор между нейронной и глиальной дифференцировкой. Таким образом, в данной работе были идентифицированы механически управляемые ионные каналы Piezo1, отвечающие за механически индуцируемые ионные токи. Белки этих каналов экспрессируются в стволовых/прогениторных клетках нервной системы человека. Активность Piezo1-каналов, запускаемая механической силой, приводила к входу ионов кальция, известного модулятора дифференциации. Подавление активности каналов фармакологическим ингибитором GsMTx-4 подавляло нейрогенез и делало астрогенез более выраженным. К похожему результату приводило и удаление Piezo1 с использованием малых интерферирующих РНК. При этом наблюдалась ядерная локализация механореактивного транскрипционного коактиватора Yes-ассоциированного белка. Можно предположить, что механически управляемые ионные каналы Piezo1, являющиеся важной детерминантой механочувствительного выбора клеточной дифференциации стволовых клеток нервной системы, могут играть похожую роль в других мультипотентных стволовых клетках. Таким образом, фармакологические агенты, модулирующие активность Piezo1, могут быть полезны для выбора необходимого направления клеточной дифференцировки трансплантированных стволовых клеток нервной системы. Однако в дальнейшем требуется установить механизм опосредования этими Piezo1 каналами направления дальнейшей дифференцировки стволовых клеток нервной системы, а также то, каким образом выбор дифференцировки транслируется во внешнюю клеточную среду *in vivo*.

О.Е. Сварник

Значение для биологии и медицины циркадного характера экспрессии генов в организме млекопитающих

A circadian gene expression atlas in mammals: Implications for biology and medicine. Ray Zhang, et al. PNAS. 2014 Vol. 111. No 45. P. 16219–16224.

Внутренние часы помогают организму адаптироваться к суточной периодичности, регулируя такие параметры как цикл сон-бодрствование, локомоторную активность, давление крови, температуру тела, уровни гормонов и многое другое. Молекулярная основа функционирования внутренних часов млекопитающих включает в себя взаимодействие транскрипционных и трансляционных компонентов петель обратной связи. При этом определяющая роль принадлежит факторам, синтезируемым в супрахиазматическом ядре гипоталамуса. Для изучения роли циркадных ритмов в поведении и физиологии мышей было проведено секвенирование последовательностей РНК и ДНК из образцов двенадцати органов в различное время суток с последующей оценкой количества транскриптомов. Порядка 43% всех белков синтезируются с циркадной периодичностью, при этом нельзя выделить анатомические зоны с преимущественной локализацией областей циркадного синтеза. В большинстве органов экспрессия факторов многих осциллирующих генов резко увеличивалась в часы, предшествующие рассвету и сумеркам. Результаты анализа геномного распределения показали, что осциллирующие гены собраны в группы кластеров большего размера, чем группы сцепленных не осциллирующих генов. Анализ на системном уровне выявил сложную организацию ритмов осцилляций данных генов в различных структурах организма. При этом считывание уже синтезированных с ДНК транскриптов на рибосомах также могло осциллировать. Периодичность трансляции была отмечена и у РНК с неизвестными функциями, причем осциллировал даже уровень синтеза некодирующих последовательностей РНК. Ритмическая экспрессия некодирующих последовательностей оказалась на схожем уровне как у человека, так и у мыши. Вероятно, данные РНК играют ключевую роль в механизмах настройки внутренних часов путем осуществления взаимодействия между различными тканями. Наиболее выраженная циркадная экспрессия была выявлена в тканях гипоталамуса, ствола мозга, мозжечка и скелетных мышц. Далее следуют белая жировая ткань, аорта, надпочечники и сердце. Наименьшее число факторов, экспрессирующихся циркадно, было отмечено в бурой жировой ткани, легких, почках и печени: данные органы должны поддерживать высокий уровень активности круглосуточно, поскольку их работа связана не столько с физической активностью, сколько с обеспечением гомеостаза. Оказалось, что большинство наиболее востребованных лекарств влияют на транскрипты циркадных генов. Поэтому важно следовать хронотерапии — принимать лекарства только в определенное время суток, в зависимости от рекомендаций специалиста, для обеспечения максимального эффекта. Данное исследование имеет большое значение для понимания функционирования организма млекопитающих, что важно для разработки эффективных способов коррекции нарушений функционирования на системном уровне.

А.Ю. Ольховик

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

Улучшение функционирования скелетно-мышечных тканей посредством гипоксии и лизилоксидазиндуцированным сшиванием коллагена

Developing functional musculoskeletal tissues through hypoxia and lysyl oxidase-induced collagen cross-linking. Eleftherios A. Makris, Donald J. Respondek, Nikolaos K. Paschos, Jerry C. Hu, Kyriacos A. Athanasiou. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. E4832–E4841.

Немаловажной проблемой современной регенеративной медицины является трудность определения нативных биомеханических свойств тканей, в частности способности к растяжению. Для повышения значений данной характеристики производят увеличение синтеза коллагена в необходимой ткани. Однако до сих пор малоизученным является вопрос действия коллагеновых вставок на нормальное функционирование ткани и поддержание ее механической целостности. Образование коллагеновых волокон обусловлено активностью фермента лизилоксидазы. Показано, что синтез данного фермента в естественных условиях резко возрастает при гипоксии, имитированной путем помещения животного или образца ткани в атмосферу, содержащую 2% кислорода. Точный механизм данного феномена неизвестен, однако продемонстрировано, что при гипоксии стабилизируется фермент HIF-1 α , который способен увеличивать продукцию лизилоксидазы. Помимо увеличения числа коллагеновых вставок, гипоксия способна вызывать повышение уровня экспрессии фактора SRY-box 9, который напрямую регулирует несколько важных генов, кодирующих такие компоненты матрикса как Col-2a1, агрекан и Col-9. Лизилоксидаза, в свою очередь, повышает синтез пиридинолина — фермента со сходными функциями. Образцы ткани, биопсированные как из животного, так и выращенные в искусственных условиях, были подвергнуты действию пиридинолина. Данный фермент по своему действию эквивалентен лизилоксидазе, но отличается каталитической способностью. Пиридинолин оказался более эффективным: наблюдалось увеличение числа коллагеновых вставок в обоих образцах тканей в 1,4–6,4 раза, по сравнению с аналогичными показателями для эндогенной лизилоксидазы в 1,3–2,2 раза, экзогенной — в 1,9 раз. При это экзогенная лизилоксидаза способна вызывать в нативных хрящах процессы пролиферации первичных хондроцитов. Совместное применение лизилоксидазы и пиридинолина увеличило эластичные характеристики молодой хрящевой ткани в пять раз по сравнению с контролем. Действие двух ферментов показывает высокую эффективность в увеличении механических характеристик в любом типе хрящевой ткани организма — в суставных хрящах, коленном мениске, надколенном сухожилии и других тканях. При имплантации мышам образцов хрящевой ткани, подвергнутых действию лизилоксидазы, показано увеличение скорости созревания прилегающих областей хряща. Данное исследование имеет большое значение для клинической практики, поскольку демонстрирует способы увеличения механических характеристик тканей опорно-двигательного аппарата, что важно для пациентов с нарушенными локомоторными функциями.

А.Ю. Ольховик

Разработка ковалентных ингибиторов, нивелирующих устойчивость к ингибиторам FGFR-киназ первого поколения

Development of covalent inhibitors that can overcome resistance to first-generation FGFR kinase inhibitors. Li Tan, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. E4869–E4877.

Рецепторные тирозинкиназы (РТК), такие как рецепторы фактора роста фибробластов (FGFR) и эпителиального фактора роста (EGFR), участвуют в регуляции множества сигнальных путей в клетке. Известно, что при различных злокачественных новообразованиях (из-за накопления мутаций) наблюдается конститутивная активность РТК, поскольку сигналы, передаваемые посредством данных рецепторов, способствуют выживаемости злокачественных клеток. Поэтому в терапии онкологических заболеваний пытаются применять специфичные блокаторы РТК. Однако разработку эффективных ингибиторов затрудняет быстрое возникновение новых мутаций РТК в злокачественных клетках, либо активации обходных сигнальных путей, что обеспечивает устойчивость опухолевых клеток к терапевтическому воздействию. Соответственно для преодоления устойчивости требуется создать такие ингибиторы, которые действуют напрямую даже на мутантные участки РТК или на обходные сигнальные пути. Такой подход уже был успешно применен в случае с EGFR. Недавно были созданы ингибиторы FGFR первого поколения: BGJ398 и AZD4547, которые конкурентно блокируют участок связывания АТФ. Ранее проведенные исследования показывают, что часто мутации возникают в области так называемого «привратника» FGF-рецептора. Чтобы преодолеть проблему возникновения устойчивости из-за частых мутаций авторы разработали и подробно описали ковалентные ингибиторы FGFR нового поколения FGFR-необратимый ингибитор-2 (FIIN-2) и FIIN-3, способные связываться с мутантными FGFR. Исследователи показали, что FIIN-2 и FIIN-3 значительно снижают пролиферацию и миграционную активность злокачественных клеток линии SKOV-3, устойчивых к большинству FGFR-ингибиторов, и обладают способностью формировать ковалентные связи с консервативными цистеиновыми остатками в P-петле FGFR-киназы (АТФ-связывающий карман), что повышает сродство данных ингибиторов как к рецепторам дикого типа, так и к мутантным формам рецепторов. Для детального анализа механизмов связывания ингибиторов FIIN-2 и FIIN-3 с FGFR применялся метод кристаллографии, с помощью которого удалось установить, что FIIN-3 связывается с V550L участком FGFR4 и L858R участком EGFR. Оказалось также, что связывание индуцировало устранение активационной последовательности Асп-Фен-Гли на N-конце FGFR, что приводило к инактивации рецептора. Выяснилось, что FIIN-3 является более эффективным ингибитором фосфорилирования AKT и ERK1/2, чем FIIN-2 и BGJ398. Таким образом, результаты опубликованной работы имеют важное практическое значение, так как получены ковалентные ингибиторы FGFR, обладающие способностью связываться даже с мутантными РТК, что позволяет эффективно воздействовать на резистентные злокачественные клетки.

И.Н. Шандарин

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

Ааg-эксцизионная репарация способствует повреждению печени, мозга и почек при ишемической реперфузии

Aag-initiated base excision repair promotes ischemia reperfusion injury in liver, brain, and kidney. Mohammad R. Ebrahimkhani, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. E4878–E4886.

Ишемическое реперфузионное повреждение (ИРП), а также воспаление сопровождают широкий ряд заболеваний человека, таких как инсульт, болезни печени, почек и инфаркт миокарда. Воспаление способствует образованию активных форм кислорода и азота, которые повреждают ДНК клеток. Считается, что эксцизионная репарация (BER), активируемая различными гликозилазами необходима для устранения повреждений вызванных активными формами кислорода и азота. В частности, алкиладенин ДНК гликозилаза (Aag/Mpg) вырезает некоторые поврежденные пары оснований ДНК. Авторы данной работы представляют новые данные, противоречащие принятой концепции, когда активность фермента Ааg-гликозилазы, скорее, вызывает повреждения и воспаление тканей головного мозга, печени, почек, нежели предотвращает эти негативные процессы. Используя моделирование ишемического реперфузионного повреждения на мышах, исследователи продемонстрировали, что трансгенные мыши с делецией двух аллелей гена *Aag* (*Aag*^{-/-}) значительно устойчивей к повреждениям органов, вызванных ишемической реперфузией. У мутантных мышей снижалась гибель клеток печени, почек и мозга после ишемического реперфузионного повреждения. При этом у контрольных мышей было повышено количество промежуточных компонентов BER-системы, хотя и на фоне снижения уровня повреждений ДНК, вызванных окислением. Это указывает на то, что компоненты BER оказывают куда больший негативный эффект, чем окислительное повреждение ДНК. Авторы предположили, что у мышей дикого типа Ааg-гликозилаза вырезает поврежденные основания ДНК, это приводит к возникновению потенциально опасных апуриновых/апириимидиновых сайтов. В таких участках образуются разрывы цепей ДНК, в результате чего происходит гиперактивация поли-АДФ-рибоза полимеразы (PARP), нарушается внутриклеточный энергообмен и возникает некроз. Гипотеза исследователей подтвердилась: у мутантных *Aag*^{-/-} мышей количество апуриновых/апириимидиновых сайтов и уровень активности ядерной PAR-полимеразы в тканях печени после ишемического реперфузионного повреждения были существенно ниже по сравнению с контролем. Повышение активности PAR-полимеразы сопровождается истощением уровня внутриклеточного НАД и АТФ, а также транслокацией и высвобождением из клетки ядерного белка Hmgb1, который является одной из причин воспаления и некроза. Таким образом, негативные эффекты ишемии в тканях печени, почек и мозга усугубляются активацией BER-системы посредством Ааg-гликозилазы. Настоящая работа раскрывает ранее неизученные негативные аспекты репарации ДНК во время воспаления и представляет новые молекулярные мишени для предотвращения повреждений, вызванных ишемическим реперфузионным повреждением.

И.Н. Шандарин

Зависимость контроля транспорта рецепторов AMPA в процессе синаптической депрессии от синтеза фосфатидилинозитол-3,5-бисфосфата при нейронной активности

Activity-dependent PI(3,5)P₂ synthesis controls AMPA receptor trafficking during synaptic depression. Amber J. McCartney, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. E4896–E4905.

Фосфорилированные инозитол-содержащие фосфолипиды (PIP) клеточных мембран играют важную роль в регулировке сигнальных процессов в клетках. Различают 7 взаимопревращаемых видов PIP, которые формируют инозитидный цикл, реакции которого тонко регулируются фосфоинозитидными киназами и фосфатазами. В нейронах PIPs регулируют транспорт молекул около плазматической мембраны для контроля функции синапсов. Нейроны чрезвычайно чувствительны к уровню фосфатидилинозитол-3,5-бисфосфата (PI(3,5)P₂), концентрации которого в клетках в норме низки. Дефекты биосинтеза PI(3,5)P₂ связаны со многими заболеваниями нервной системы, включая эпилепсию, тяжелую нейропатию и нейродегенерацию, а также с раннюю смертность как у людей, так и у лабораторных животных. Чрезвычайно мало, однако, известно о функции PI(3,5)P₂ в клетках, в частности, в нейронах. Было замечено, что гомолог мутанта вакуолярной сегрегации дрожжей (*Vac14*), обнаруженный у млекопитающих и обеспечивающий структурную организацию комплекса, отвечающего за синтез PI(3,5)P₂, сконцентрирован в возбуждающих синапсах, что указывает на возможную роль PI(3,5)P₂ в регулировке функции синапсов и пластичности. При помощи изменения экспрессии фосфатидилинозитол 3-фосфат-5-киназы (PI3P5K), называемой также PIKfyve, авторами было обнаружено, что изменения в активности нейронов динамически регулируют уровни PI(3,5)P₂ и других PIPs. Было показано, что индукция долговременной синаптической депрессии двумя различными методами увеличивала количества PI(3,5)P₂ в нейронах, в то время как ингибирование PIKfyve предотвращало, или даже обращало, долговременной синаптической депрессии. Более того, авторами было обнаружено, что изменение концентрации PI(3,5)P₂ в нейронах влияло на силу синаптической передачи, в частности, на снижение уровней PI(3,5)P₂; приводило к увеличению миниатюрных потенциалов постсинаптической мембраны (mEPSP), в то время как увеличение уровней PI(3,5)P₂ приводило к снижению mEPSP. Угнетение синтеза PI(3,5)P₂ при помощи специфических ингибиторов PIKfyve, YM201636 или апилимоды, приводило к угнетению ретроградного транспорта рецептора α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (AMPA-рецепторы), что предотвращало развитие долговременной синаптической депрессии. На основе полученных результатов было предложено, что PI(3,5)P₂ может играть критическую роль в регулировании силы синаптической передачи при нейронной активности.

Д.А. Лим

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ ·

Клиническая медицина

Быстрое фукозилирование кишечного эпителия при болезни поддерживает клетки-симбионты

Rapid fucosylation of intestinal epithelium sustains host-commensal symbiosis in sickness. Joseph M. Pickard, et al. Nature. 2014. Vol. 514. No 7524. P. 638–641.

L-фукоза служит субстратом микрофлоры, колонизирующей подвздошную кишку, и присоединяется к гликопротеинам в клетках кишечного эпителия (IEC) под действием $\alpha(1,2)$ фукозилтрансферазы 2 (Fut2), которая индуцируется при инфекции. Отсутствие функционального гена *FUT2* у 20% людей связывают с болезнью Крона и летальным исходом при сепсисе у детей. В работе с помощью флуоресцентной микроскопии кишечника с окрашиванием фукозилированных белков меченым агглютинином1 из *Ulex europaeus* (UEA-1) обнаружено, что агонисты Toll-подобных рецепторов (TLR), например липополисахариды (LPS) или клетки *Salmonella enterica* ssp. *Typhimurium*, вызывая анорексию, диарею и потерю массы тела беспатогенных мышей, приводили к фукозилированию в IEC. Аналогично сигнальному пути индукции антимикробных пептидов, фукозилирование нарушалось при делеции *MyD88* (адаптора сигнального пути TLR) в дендритных клетках, а также при нокауте интерлейкинов IL-23 и IL-22 и транскрипционного регулятора ROR γ t; при этом эффект восстанавливался инъекцией IL-22 в кишечник *Myd88*^{-/-} мышей. В отличие от *Fut2*^{+/-}, SPF мышей с антибиотиками и безмикробных (GF) мышей, в *Fut2*^{-/-} мышах наблюдались нарушение LPS-индуцированного фукозилирования и задержка в восстановлении массы тела (при анорексии, вызванной голоданием, восстановление веса было одинаковым). Предполагается, что фукозилированные белки поступают в просвет кишечника, где бактериальные фукозидазы отщепляют и метаболизируют фукозу, в т. ч. в короткоцепочечные жирные кислоты (SCFAs). Флуоресцентной микроскопией и количественным РТ-ПЦР показано, что LPS-индуцируемое *Fut2*-зависимое повышение экспрессии GFP и генов импорта (*fucP*) и метаболизма (*fucA*) фукозы происходило при колонизации кишечника GF мышей клетками *E. coli* вместе с симбиотом *B. acidifaciens*, обладающим фукозидазной активностью. Эффект исчезал при применении антибиотиков. Метагеномным анализом, секвенированием 16S-rPHK (MG-RAST 10494) и методом дробовика (gene expression omnibus GSE60874) показано, что инъекция LPS, не изменяя состав микробиома, повышала экспрессию фукоза-пермеазы (*fucP*; K02429) в *Fut2*^{+/-} и факторов вирулентности *rtxA* (K10953) и гемолизин III (K11068) в *Fut2*^{-/-}. Эффект фукозилирования на чувствительность к патогенам изучен в *Fut2*^{-/-} и *Fut2*^{+/-} мышах, инфицированных возбудителем *S. rodentium* и LPS. Через 7 дней количество патогенных клеток (определено по уровню люциферазы) было одинаковым, однако у *Fut2*^{-/-} были более выраженными потеря веса и гиперплазия толстой кишки, по сравнению с мышами, инфицированными только LPS. Сделан вывод, что индуцируемое фукозилирование IEC служит для экстренной поддержки хозяином кишечных симбионтов, при которой фукоза метаболизируется микробиотой и может увеличивать толерантность хозяина к возможным патогенам, влияя на экспрессию факторов вирулентности.

В.Н. Колядко

Заражение клеток хозяина коронавирусом ближневосточного респираторного синдрома после двухступенчатой, опосредованной фурином, активации спайк-белка

Host cell entry of Middle East respiratory syndrome coronavirus after two-step, furin-mediated activation of the spike protein. Jean Kaoru Millet, Gary R. Whittaker. PNAS. 2014. Vol. 111. No 42 P. 15214–15219.

Коронавирус ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV) — недавно идентифицированный бетакоронавирус, являющийся причиной высокой заболеваемости и смертности (35% заболевших) у человека. В культуре MERS-CoV может инфицировать широкий спектр клеток. Такой политропизм у коронавируса необычен и вызывает тревогу с эпидемиологической точки зрения. Коронавирусы получают доступ к клеткам хозяина через слияние мембран, которое происходит при помощи специфического белка (спайк-белка, или S-белка). Этот белок активируется за счет протеолитического расщепления, и понимание механизма расщепления S-белка имеет первостепенное значение для общего понимания вирусного патогенеза. Активировать S-белок коронавирусов могут разные протеазы, таким образом коронавирусы адаптируются к новой среде обитания. Протеолитическое расщепление, которое приводит к слиянию мембран, может происходить как на поверхности соединения двух доменов — связывающегося с рецептором (S1) и доменом слияния (S2) (S1/S2), так и в позиции, соседней с областью домена S2, отвечающей за слияние с мембраной (S2'). В представленной статье авторы исследовали расщепление S-белка вируса MERS-CoV. Проведен компьютерный поиск последовательностей расщепления различных протеаз и обнаружено, что поверхность S1/S2, а также S2' содержат минимальные сайты расщепления фурином. Анализ протеолиза фурином очищенного S-белка подтвердил, что фурин расщепляет этот белок по обоим найденным сайтам. Далее авторы провели мутационный и биохимический анализ S-белка и продемонстрировали, что S1/S2-сайт расщепляется фурином во время биосинтеза, а сайт, находящийся в S2', расщепляется фурином после сборки и высвобождения вируса. Уровень экспрессии фурина заметно влияет на инфекционность MERS-CoV. Высокая экспрессия фурина приводит к увеличению инфекционности, клетки же, в которых экспрессия фурина блокирована, были значительно менее чувствительны к инфекции MERS-CoV. Эти данные прямо указывают на значительную активационную роль фурина во время заражения клеток MERS-CoV. Низкий pH препятствует заражению MERS-CoV, однако увеличение уровня экспрессии фурина может частично компенсировать действие низкого pH. Авторы исследовали эффект обработки клеток ингибитором катепсина, одной из эндосомальных протеаз. Обработка клеток ингибитором катепсина и фурина одновременно почти полностью предотвращала заражение клеток MERS-CoV, однако ингибирование только катепсина также снижало инфекционность вируса. Эти данные свидетельствуют о том, что MERS-CoV может использовать разные протеазы для своей активации, что может объяснить его высокий тропизм.

Е.А. Кутукова

МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Клиническая медицина

Временные характеристики и гетерогенность, связанные с лекарственной устойчивостью при метастазах злокачественных опухолей

Timing and heterogeneity of mutations associated with drug resistance in metastatic cancers. Ivana Bozic, Martin A. Nowak. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 15964–15968.

При лечении злокачественных новообразований одним из главных препятствий является приобретаемая опухолевыми клетками устойчивость к действию как фармакологических препаратов, так и иных терапевтических процедур. Химиотерапия и лучевая терапия имеют широкий спектр побочных действий, при этом эффективность подобного рода лечения фиксируется не во всех случаях. Препараты, нацеленные на специфические молекулы растущей опухоли, отсутствующие у здоровых клеток, также не решают проблемы, поскольку часто после первичного замедления роста опухоли через несколько месяцев наступает резкое прогрессирование опухоли. Возможно причины данного феномена кроются в наличии субпопуляции злокачественных клеток, которые уже обладают невосприимчивостью к действию препаратов. Однако в настоящее время не известны механизмы формирования генетических перестроек у субпопуляций устойчивых клеток. Благодаря разработке нового метода, позволяющего обнаруживать популяции невосприимчивых клеток с момента их возникновения, появилась возможность определить полный круг мутаций, которые обеспечивают резистентность в разнородных метастазах. Данный метод основан на математической модели, которая высчитывает пути эволюции клеток путем многофакторного анализа, включающего: количество клеток, способных выдержать химиотерапию в зависимости от размера опухоли, способности опухолей различных локализаций подвергаться определенным мутациям под действием препаратов и многих других факторов. За основу была взята модель Лурии-Дельбрука, описывающая накопление устойчивых клеток в бактериальных популяциях с экспоненциальным ростом численности. Основываясь на разработанной модели, было подсчитано ожидаемое и среднее количество клеток каждого субклона. При этом несмотря на то, что модель хорошо описывает рост каждой популяции клеток, соотношения медиан между устойчивыми субклонами оказались независимыми от всех параметров, включенных в модель. Модель основана на допущении, что злокачественные клетки не гибнут, но при этом не учитывается, что мутация, которая сделала клетку устойчивой, могла произойти второй раз в обратную сторону, что для популяции устойчивого субклона равносильно гибели данной клетки. Было показано, что каждый рентгенографически обнаруживаемый метастаз содержит минимум 10 устойчивых субклонов. Данные результаты подтверждаются клиническими исследованиями, которые были получены путем биопсии опухоли ободочной кишки, с которой боролись путем блокады рецепторов эпидермального фактора роста. Данное исследование позволяет подсчитать генетическую гетерогенность популяции клеток опухоли еще до лечения, что способствует разработке подходящей стратегии борьбы на самых ранних этапах заболевания.

А.Ю. Ольховик

Предпочтительное взаимодействие и активация киназы β гликогенсинтазы белком p25 — активатором циклин-зависимой киназы 5

CDK5 activator protein p25 preferentially binds and activates GSK3 β . Hei-Man Chow, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. E4887–E4895.

Болезнь Альцгеймера характеризуется снижением когнитивных функций и прогрессирующей атрофией нейронов, приводящих к деменции и, в итоге, к смерти. Отличительным гистологическим признаком болезни являются наличие внеклеточных отложений бета-амилоидов ($A\beta$), называемых также сенильными бляшками, а также образованием нейрофибриллярных клубочков внутри нейронов, которые формируются в результате гиперфосфорилирования белка тау. На молекулярном уровне, болезнь Альцгеймера характеризуется нарушением активности множества сигнальных белков, в том числе циклин-зависимой киназы 5 (CDK5) и киназы β гликогенсинтазы (GSK3 β). CDK5 играет важную роль в регуляции нейронной миграции и дифференциации. *In vitro* было показано что нейроны, в которых CDK5 отсутствует, более подвержены токсичности бета-амилоида чем нейроны дикого типа. GSK3 β является мастер-регулятором таких важных процессов в мозге как нейрогенез, поляризация клеток, формирование нейритов и синаптическая пластичность. Было показано, что киназы CDK5 и GSK3 β взаимосвязаны, делят структурную схожесть и обе фосфорилируют белок тау, участвуя в этиологии болезни Альцгеймера. В норме CDK5 активируется циклин-подобными белками p35 и p39. Авторами было обнаружено, что GSK3 β связывается с белком p25, который является продуктом расщепления p35 кальций-зависимой протеазой кальпаином. При помощи метода резонансного переноса энергии флуоресценции (FRET) авторами было показано, что GSK3 β и p25 взаимодействуют на нанометровой дистанции как в теле нейронов, так и в синаптических окончаниях. При этом, взаимодействие GSK3 β и p25 изменяло субстратную специфичность киназы GSK3 β , что приводило к усилению фосфорилирования белка тау, в то время как фосфорилирование бета-катенина было ослаблено. *In vitro*, на культуре нейронов, а также *in vivo*, путем электропорации мышинных эмбрионов в матке, было обнаружено, что коэкспрессия GSK3 β и p25 приводила к коллапсу нейритов и снижению интенсивности окраски синапсина-I, маркера пресинаптических окончаний. Авторами было предложено, что эффекты действия белка p25, которые прежде объясняли гиперактивацией киназы CDK5, должны быть пересмотрены в пользу возможной активности киназы GSK3 β . Полученные результаты предлагают новое направление для будущих исследований механизмов атрофии нейронов, связанной с болезнью Альцгеймера и другими нейродегенеративными заболеваниями.

Д.А. Лим

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Электротехника, электронная техника, информационные технологии

Изучение межфазной структуры воды на золотых электродах методом абсорбционной рентгеновской спектроскопии

The structure of interfacial water on gold electrodes studied by x-ray absorption spectroscopy. Juan-Jesus Velasco-Velez, Cheng Hao Wu, Tod A. Pascal, Liwen F. Wan, Jinghua Guo, David Prendergast, Miquel Salmeron. Science. 2014. Vol. 346. No 6211. P. 831–834.

Многие важные процессы в электрохимических реакциях, такие как десольватация ионов и перенос заряда, происходят в так называемом двойном электрическом слое (ДЭС), также известном как слой Гельмгольца. Этот слой, содержащий сольватированные ионы и молекулы растворителя, как правило, имеет толщину от одного до десятков нанометров, в зависимости от концентрации растворенного вещества. Важной характеристикой ДЭС является наличие сильного электрического поля, перпендикулярного поверхности электрода, что, как полагают, играет ключевую роль в определении структуры слоя. Изучение водных растворов важно для химии, биологии и материаловедения. Сильный диполь молекулы воды и ее водородные связи обуславливают ряд свойств, например высокую температуру кипения и удельную теплоемкость. Локальное возмущение системы водородных связей вблизи поверхности под действием сильного электрического поля будет влиять на структуру первых молекулярных слоев. В работе применялся метод абсорбционной рентгеновской спектроскопии (XAS — x-ray absorption spectroscopy), основанный на ослаблении рентгеновского излучения при прохождении через слой анализируемого материала в зависимости от химического состава материала и энергии излучения. Метод показателен, когда в матрице из легких атомов содержится один интересующий элемент большой атомной массы. Авторы исследовали структуру молекул воды на золотых электродах и ее зависимость от смещения потенциала. Данные XAS, полученные на золотом электроде, и анализ траектории молекулярной динамики AIMD (*ab initio* molecular dynamics — метод молекулярной динамики *ab initio*) в первом приближении показали, что 49% межфазных молекул воды (~ 1 нм электрода) лежат на поверхности с насыщенными водородными связями, а еще 49% имеют одну разрушенную водородную связь, что значительно выше, чем в общем объеме (22%). Возможная интерпретация такова: при отрицательном смещении потенциала электрическое поле способствует ориентации молекул воды их атомами водорода в направлении поверхности золота, что увеличивает число оборванных водородных связей. Сложность межфазной молекулярной структуры требует точных расчетных методов *ab initio*. XAS предоставляет возможность для дальнейших исследований структуры и химии растворителей в межфазных слоях вблизи электрода в присутствии электрических полей. Ученые считают, что методы XAS, в сочетании с современными экспериментальными и теоретическими подходами, будут иметь большое значение для понимания электрохимических реакций, электрокатализа, фотохимии и других явлений.

Е.В. Ветрова

Наблюдение топологических переходов во взаимодействующих квантовых электрических цепях

Observation of topological transitions in interacting quantum circuits. P. Roushan, C. Neill, Yu Chen, et al. Nature. 2014. Vol. 515. No. 7526. P. 241–244.

Топология и ее математические построения часто проявляются в физике и играют ключевую роль в понимании природных явлений. Так, открытие топологических фаз в конденсированных средах изменило концепцию фазовых состояний вещества. Существующие экспериментальные методы исследования эффекта топологического упорядочения являются косвенными и являются неадекватными для изучения топологии физических систем на фундаментальном уровне. Сущностью подхода, развиваемого авторами статьи, является определение геометрической кривизны путем измерения отклонения квантовых траекторий системы в искривленном пространстве параметров гамильтониана. Топологические свойства затем выявляются путем интегрирования кривизны по замкнутой поверхности на основе квантового аналога теоремы Гаусса-Боннэ. Кривизна проявляется как эффективная сила $F \sim \nabla \times \mathbf{B}$, действующая на квантовую систему при изменении параметра гамильтониана со скоростью V (здесь \mathbf{B} есть векторная форма кривизны Берри). Эта сила отклоняет траекторию системы от адиабатического пути и может быть найдена путем измерения наблюдаемых величин. В подходе авторов локальная кривизна динамически контролируется, а топологические параметры, такие как параметр Черны Ch (этот параметр есть интеграл по замкнутой поверхности от \mathbf{B}), находят при интегрировании результатов измерений. В полностью контролируемой квантовой системе этот метод позволяет эффективно исследовать ее топологические свойства. Для иллюстрации развитого динамического метода рассмотрена простая реализация квантовой электрической цепи, включающей сверхпроводящий кубит на основе сверхпроводящего квантового интерферометра (СКВИДа). Квантовое состояние единичного кубита эквивалентно частице со спином $1/2$, помещенной в магнитное поле. Соответствующий гамильтониан во вращающейся системе имеет вид $H_S \sim -\mathbf{H} \times \mathbf{S}$, где \mathbf{H} — магнитное поле, а \mathbf{S} — матрица Паули. Контроль за всеми параметрами гамильтониана обеспечивается микроволновыми импульсами, задающими компоненты поля H_x , и потоком магнитного поля через сверхпроводящий контур СКВИДа, контролирующим компоненту H_z . Число Ch измеряется на сферических многообразиях основного состояния. Достоинство метода выявляется при изучении топологии взаимодействующей квантовой системы. Это требует введения новой архитектуры кубитов, позволяющей контролировать каждое слагаемое двухкубитного гамильтониана. Исследуя параметрическое пространство этого гамильтониана, обнаружено появление топологической фазы, которая индуцирована взаимодействием. Детали эксперимента описаны в Дополнении. Работа создает мощную платформу для изучения топологических явлений в квантовых системах. Общность метода согласуется с оригинальной идеей квантовых вычислений Фейнмана, в рамках которой контролируемая квантовая система используется для изучения квантовых явлений, недоступных для изучения другими методами.

Г.В. Дедков

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Энергетика и рациональное природопользование

Последствия распространения погруженной нефти после аварии на нефтяной станции *Deepwater Horizon*

Fallout plume of submerged oil from *Deepwater Horizon*. David L. Valentine, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No. 45. P. 15906–15911.

Взрыв нефтяной платформы *Deepwater Horizon* в Мексиканском заливе привел к неконтролируемому выбросу в океан порядка 700 т нефти. Выброс произошел на глубине около 1500 м и содержал водорастворимые и водонерастворимые углеводороды. Из них судьба 300 т погруженной под воду нефти, особенно ее водонерастворимой части, остается неизвестна. Водорастворимая фракция, по большей части, была подвергнута биodeградации. Предполагается, что разлившаяся нефть была заблокирована в глубоких слоях океана на глубине примерно 1000–1300 м. Для поиска следов нефти, собравшейся на океаническом дне, авторы изучали химическое распределение углеводородов из более 3000 проб в 534 местах. Используя устойчивый биомаркер сырой нефти, $17\alpha(\text{H}),21\beta(\text{H})$ -гопан, была определена область размером 3200 км² вокруг Макондо с превышением загрязнения по гопану на $\sim 1,8 \pm 1,0 \times 10^6$ г. На основании различных оценок — пространственной, химической, океанографической и баланса масс — авторы рассчитали, что это загрязнение представляет 4–31% нефти, накопленной в глубине океана. Картина загрязнения указывает

на наличие погруженных слоев с двумя режимами осаждения: «круглая ванна», формируемая из слоя богатой нефтью воды, падающей со склонов континента (на глубине 900–1300 м), и более концентрированный «шлейф», формирующийся при выпадении частиц нефти на подстилающие осадочные отложения (на глубине 1300–1700 м). Авторы предположили, что значительное количество нефти осело на дне океана за пределами исследованной области и не было обнаружено из-за гетерогенности пространственного распределения. Для проверки этой гипотезы использовали данные о пространственном распределении гопана в Мексиканском заливе, взятые из публичных источников. Это позволило определить как фоновый уровень гопана, так и его накопление вследствие события на *Deepwater Horizon*. Анализ показал, что накопление нефти произошло на гораздо большей территории и имеет вид лоскутного одеяла. Это можно связать с деятельностью бактерий, питающихся водорастворимой фракцией, накопленная биомасса которых выступала в качестве флокулянта для водонерастворимой фракции, что изменяло интенсивность и расположение осаждения и приводило к его неравномерности. Таким образом, пространственное распределение гопана на дне океана сигнализирует о загрязненном участке и может служить критерием полученного экологического ущерба, а также делает удобным сравнение других углеводородов. Предлагается метод изучения физических процессов в частицах нефти и оценки биodeградации углеводородов на месте.

Н.В. Лупачева.

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Медицинские технологии

Внутричерепная доставка микрокапсул химиотерапевтических препаратов для локализованного лечения аденокарциномы молочной железы грызунов с метастазами в мозге

Intracranial microcapsule chemotherapy delivery for the localized treatment of rodent metastatic breast adenocarcinoma in the brain. Urvashi M. Upadhyay, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16071–16076.

Одна из проблем лечения интракраниальных метастазов заключается в трудности с доставкой химиотерапевтических препаратов в ЦНС: препятствием служит гематоэнцефалический барьер. В данном исследовании изучен транспорт агентов темозоламида и доксорубицина. Темозоламид — основной препарат, используемый в лечении глиом и рецидивирующих метастазов головного мозга. Доксорубин применяют при различных формах рака молочной железы, однако токсические эффекты, оказываемые им на сердце, являются ограничивающим фактором. В работе сравниваются два способа введения лекарственных препаратов грызунам при аденокарциноме молочной железы с метастазами в головной мозг: локально, с помощью микрокапсул, внутрь черепа и системно. Капсулы для внутричерепного введения производились из устойчивого биологически совместимого с организмом жидкокристаллического полимера, не допускающего утечки препарата из капсулы. Каждая капсула имела 5 отверстий: 1 в верхней части, диаметром 889 мкм и 4 по периметру, диаметром 403 мкм. Герметичность капсул была подтверждена методами спектроскопии и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Скорость высвобождения темозоламида в воде в первые 100 ч составляла $88 \text{ мг} \pm 6,75 \text{ мкг/ч}$, но затем снижалась, что приводило к его высвобождению лишь на 71% за 190 ч. Доксорубин высвобождался на 70% за 300 ч. При внутричерепном введении препаратов наблюдались изменения в экспрессии усеченной формы каспазы 3 — важного участника апоптоза. Методом иммуногистохимического исследования, при максимальном увеличении микроскопа в одном поле зрения удавалось выявить в среднем 12 положительных клеток в контроле, 81 — при введении капсул с доксорубицином, 103 — для темозоламидсодержащих капсул. Следовательно, внутричерепное введение темозоламида более активно индуцирует апоптотические пути. При введении доксорубицина в капсулах по 5 мг жизнь крыс в среднем удавалось продлить до 14 дней (против 10 дней в контрольной группе), при введении темозоламидсодержащих капсул — до 18 дней. При этом внутричерепное введение темозоламида и системное доксорубицина продлевали жизнь грызунов более эффективно, чем внутричерепное введение доксорубицина или системное введение темозоламида. Вероятно, эти различия в эффектах препаратов объясняются более эффективным распространением темозоламида в организме по сравнению с доксорубицином, как показали исследования на здоровых грызунах. Было показано, что эффективность распространения определяется не переносчиком препарата, а его химическими свойствами. Таким образом, использованные микрокапсулы — безопасные, надежные переносчики препаратов.

А.Л. Братцева

Терапевтическая эффективность нейтронозахватной терапии, регулируемой борсодержащими липосомами, в случае экспериментального рака полости рта у хомяков

Therapeutic efficacy of boron neutron capture therapy mediated by boron-rich liposomes for oral cancer in the hamster cheek pouch model. Elisa M. Heber, et al. PNAS. 2014 Vol. 111. No 45. P. 16077–16081.

Терапия захвата нейтронов бором (BNCT) — это метод лечения рака, сочетающий облучение ^{10}B преимущественно опухолевых клеток термальными и эпитеpmальными нейтронными пучками. α -частицы с высокой линейной передачей энергии (LET) и ^7Li -ядра, испускаемые во время захвата нейтронов, имеют высокую биологическую эффективность и направленность на объекты размером 5–9 мкм (диаметр одной клетки). Таким образом, BNCT действует очень выборочно, минимально повреждая здоровую ткань. Кроме того, так как BNCT подразумевает биохимическое нацеливание, она идеально подходит для лечения недиагностируемых микрометастазов или очагов злокачественного перерождения ткани. Клинические испытания BNCT в случае лечения глиобластомы головного мозга, меланомы или печеночноклеточного рака с использованием борфенилаланина (БФА) или меркаптоундекогидрододекарборана натрия в роли переносчиков ^{10}B были более эффективны, чем традиционная лучевая терапия. Задачей BNCT является аккумуляция и удержание нетоксичных переносчиков ^{10}B во всех популяциях опухолевых клеток в концентрации, достаточной для прохождения значительного количества $^{10}\text{B}(n,\alpha)^7\text{Li}$ -реакций. Для решения этой задачи необходима разработка новых, более селективных, нетоксичных и эффективных переносчиков бора, которые могут поддерживать высокое содержание бора в опухолевой клетке по отношению к концентрации бора в крови. Внимание авторов было сосредоточено на липосомальной системе доставки, так как липосомы очень эффективны в плане доставки большого количества самых разнообразных агентов в определенные участки тканей. Они проходят через аберрантные опухолевые сосуды и пассивно накапливаются там. В частности, как перспективные переносчики рассматриваются небольшие однослойные липосомы, которые могут инкапсулировать водные растворы натриевых солей боратных анионов. Авторы статьи поставили задачу оценить терапевтическую эффективность и возможную радиотоксичность BNCT с использованием MAC-TAC системы в модели рака щеки на хомяках. Такая терапия особенно важна для опухолей области головы или шеи, так как в их случае при оперативном вмешательстве сложно не задеть нормальные клетки. Модель рака слизистой оболочки щек у хомяков обладает преимуществом образования так называемой «предраковой ткани», изучение которой клинически важно, так как такая ткань лимитирует возможную дозу облучения. Авторы статьи сделали вывод, что при данном лечении в данной модели достигается постоянный и надежный контроль роста опухоли в течение долгого времени. В конце четвертого месяца рост был отмечен только у 13% опухолей, в то время как у контрольных животных без лечения или только с лучевой терапией уже под конец первого месяца рост составил 84% и 72%, соответственно.

А.И. Ташкеев

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Механика и машиностроение

Электрохимическое определение опухолевой метилтрансферазы человека без использования радиоактивной метки

Label-free electrochemical detection of human methyltransferase from tumors. Ariel L. Furst, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 42. P. 14985–14989.

Эпигенетические модификации, включая метилирование ДНК, регулируют экспрессию генов. Нарушение метилирования ДНК метилтрансферазами нередко является причиной развития опухолей, и эффективное определение активности метилтрансфераз позволяет диагностировать заболевание на ранних стадиях. Наиболее распространенной метилтрансферазой млекопитающих и важным объектом диагностики является ДНК(цитозин-5)-метилтрансфераза 1 (DNMT1), катализирующая присоединение метильной группы преимущественно к гемиметилированной ДНК с использованием кофактора S-аденозил-L-метионина (SAM). Авторы статьи предлагают метод электрохимического определения DNMT1, обладающий меньшей стоимостью и более простой, чем существующие способы детекции, требующие использования радиоактивных и флуоресцентных меток и высокой чистоты препаратов. Была разработана технология получения подложки с электродами, содержащей на поверхности монослой ДНК с низкой плотностью молекул. Низкая плотность ДНК позволяет DNMT1 взаимодействовать с монослоем даже в неочищенном лизате. Вторичный электрод измеряет количество ДНК на подложке, определяя транспорт заряда через спирали ДНК (DNA CT). Сигнал амплифицируется более чем в 10 раз за счет использования системы редокс-агентов: метиленового синего и феррицианида. Для определения DNMT1 с подложкой конъюгировали ДНК, содержащую сайт метилирования DNMT1 (гемиметилированный 5'-CG-3' сайт). Неочищенные лизаты опухолевых клеток, полученных при биопсии колоректального рака, наносили на подложку. Затем электроды обрабатывали рестриктазой BssHII, чувствительной к метилированию по данному сайту. Если ДНК подвергалась метилированию активной DNMT1 из лизата, рестрикция не проходила и сигнал DNA CT оставался на том же уровне. В отсутствие метилирования DNMT1, ДНК-субстрат разрезался эндонуклеазой по гемиметилированному сайту, уменьшая количество ДНК на подложке. Снижение электрохимического сигнала детектировалось вторичным электродом. В качестве контроля использовали очищенный препарат DNMT1 или ДНК с отсутствием гемиметилирования по сайту 5'-CG-3'. С помощью разработанного метода авторы статьи продемонстрировали успешное определение активности DNMT1 с фемтомолярной чувствительностью в лизатах как культивируемых, так и полученных при биопсии клеток колоректального рака. Более того, удалось экспериментально различить опухолевую ткань с повышенной экспрессией DNMT1 и окружающую ее здоровую ткань. Таким образом, был разработан новый электрохимический метод определения активности метилтрансферазы DNMT1, позволяющий упростить диагностику некоторых видов рака. Возможно использование данного метода как основы для систем определения различных модификаций ДНК и создания нового класса электрохимических биосенсорных технологий.

Е.П. Барыкин

Применение десорбционной масс-спектрометрии с электроспрей-ионизацией при определении границ опухолей молочных желез

Application of desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging in breast cancer margin analysis. Calligaris D., Caragacianu D., Liu X., et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 42. P. 15184–15189.

Рак молочной железы является самым распространенным видом рака, диагностируемым у пациенток в США. Хирургическое удаление опухоли требует точного определения ее границы. В случае неполного удаления опухоли необходимо повторное хирургическое вмешательство, сопряженное с риском занесения инфекции, дополнительной психологической нагрузкой и нанесением ущерба эстетического характера. Ранее было показано, что здоровые и опухолевые ткани отличаются липидным составом. Целью представленной работы являлась проверка возможности применения десорбционной масс-спектрометрии методом электроспрей-ионизации (DESI-MSI) для идентификации границы опухоли молочной железы по профилю распределения липидов. При исследовании опухолей образцы тканей отбирали из нескольких зон: центр опухоли, граница опухоли и здоровой ткани, а также зон, расположенных в 2 и 5 см от границы опухоли. Масс-спектры образцов опухоли молочной железы и здоровой ткани каждого пациента отличались величинами пиков, соответствующих липидам одного и того же типа. В результате сравнительного анализа всех образцов были получены усредненные масс-спектры здоровой и опухолевой ткани. Последующее вычитание масс-спектра опухолевой ткани из масс-спектра здоровой ткани позволило получить разностный масс-спектр. Пики разностного масс-спектра соответствовали ионам, являющимся потенциальными маркерами при определении границы опухоли методом DESI-MSI. Отношение масса/заряд для ионов восьми пиков было определено с высокой точностью посредством ион-циклотронной масс-спектрометрии с Фурье-преобразованием (FT-ICR MS). Для шести пиков удалось достоверно идентифицировать соответствующие типы липидов. Методом DESI-MSI была произведена визуализация распределения липидов в образцах, представляющих секции опухолевых и здоровых тканей. Пространственное распределение некоторых анализируемых липидов оказалось различным для разных секций ткани. Граница опухоли, представленная в одной из анализируемых секций хорошо различима благодаря резкой границе распределения нескольких типов липидов. Для увеличения точности полученных результатов использовали статистическую обработку методом главных компонент. Результаты, полученные методом DESI-MSI, согласовались с результатами гистологического окрашивания образцов. Представленная работа является первым исследованием, демонстрирующим возможность применения DESI-MSI для определения границы опухоли молочной железы. Данный метод еще не был испытан для анализа сегментарных и мультицентрических поражений, поэтому разработка необходимого клинического протокола является перспективным направлением дальнейших исследований. Модификация данного метода позволила бы в дальнейшем идентифицировать подтип рака молочной железы и определять статус гормональных рецепторов.

Р.А. Марыгин

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Нанотехнологии

Формовка неорганических наночастиц с использованием ДНК в качестве «литейной формы»

Casting inorganic structures with DNA molds. Wei Sun, et al. Science. 2014. Vol. 346. No 6210. P. 1258361-1–1258361-8.

Возможность изготовления неорганических наночастиц с произвольно заданной трехмерной формой, размерами и специально модифицированной поверхностью необходима для работы различных устройств, например нанооптических приборов и биосенсоров. Однако сложно добиться специфически заданной формы с разрешением менее 5 нм. Литография по нисходящему технологическому методу (основанная на разрушении более массивного кристалла до уровня наночастицы) имеет ограниченное применение: как правило, она пригодна только для высокосимметричных форм с идентичными поверхностями граней. Для устранения описанных недостатков был разработан способ создания произвольной трехмерной неорганической наночастицы с использованием ДНК. В данном методе применяется механически жесткая синтетическая ДНК, структура которой рассчитана программным обеспечением caDNApo путем моделирования В-формы. Смоделированная структура имеет заданную по размеру и форме полость, в которой и формируется необходимая наночастица. Изначально в полости находится небольшой затравочный кристалл определенного металла (Au, Ag). При восстановлении металла из раствора число атомов кристалла увеличивается, и он заполняет собой выделенное пространство, повторяя форму, заданную структурой ДНК. С помощью данного метода были сконструированы серебряные наночастицы размером менее 25 нм с независимо заданными размерами по каждой из трех осей. Разнообразие возможного вида частиц, полученных при использовании ДНК, было доказано последующим созданием структур с закругленной, кубовидной и треугольной формой с выходом реакции до 40%. При этом полость может включать в себя уже синтезированную наночастицу, что служит основой для создания частиц сложной формы более высоких порядков (например, Y-образных). Было показано, что многослойные формы ДНК обеспечивают более высокую жесткость при ограничении роста частиц в полости по сравнению с однослойными. Также дополнительно по методу спектроскопии потерь энергии электронов (EELS) было показано плазмонное свойство смоделированной равносторонней пирамиды и сферы из серебра. Таким образом, наноконструирование при помощи ДНК расширяет рамки для создания наночастиц с заданной формой, размерами и поверхностными модификациями с разрешением в 5 нм. Данный способ может сделать возможным моделирование и конструирование оптических наносистем, электронных наноконструкторов и, возможно, сложных неорганических нанороботов по индивидуальным чертежам при помощи кодирования необходимой информации за счет ДНК.

А.Ю. Ольховик

Плазмоэлектрические потенциалы в металлических наноструктурах

Plasmoelectric potentials in metal nanostructures. Matthew T. Sheldon, Jorik van de Groep, Ana M. Brown, Albert Polman, Harry A. Atwater. Science. 2014. Vol. 346. No 6211. P. 828–831.

Преобразование оптической мощности в электрический потенциал, как правило, осуществляют путем оптического возбуждения полупроводниковых материалов. В работе представлен метод создания светом электрического потенциала за счет использования явления плазмонного резонанса в структурах, целиком состоящих из металла. Наноструктуры благородных металлов демонстрируют замечательные оптические свойства, возникающие при воздействии падающего света на коллективные движения электронов проводимости (плазмоны). Возбуждение, распространение и локализация таких плазмонов могут быть адаптированы к различным требованиям возможных приложений путем наномасштабного контроля размеров и формы металлической наноструктуры, что сделало возможным существование наноразмерных фотонных волноводов, модуляторов, усиливающих генерацию второй оптической гармоники, улавливающих свет структур (для фотовольтаики) и ряда биологических способов маркировки. Воздействие лазерного света здесь также может привести к эффективному локализованному нагреву, поскольку сечение резонансного поглощения для плазмонных наноструктур намного больше их физического сечения. Недавние исследования продемонстрировали возможность контроля частоты плазмонного резонанса металлических наноструктур путем изменения плотности носителей в металле: повышение плотности приводит к синему смещению резонанса, снижение плотности — к красному смещению. Обратный эффект — оптическая генерация электростатического потенциала, связанная с оптически управляемым изменением плотности носителей — в плазмонных наноструктурах до сих пор не наблюдался. Однако термодинамические соображения говорят за то, что подобный плазмоэлектрический эффект должен иметь место, что и было экспериментально подтверждено в настоящем исследовании. Особенности экспериментально наблюдаемого плазмоэлектрического эффекта были успешно получены в рамках модели, рассматривающей металлические (золотые) наноструктуры, расположенная на заземленной проводящей подложке и освещаемая монохроматическим излучением с длиной волны чуть ниже длины волны плазмонного резонанса. Обнаружены отрицательные и положительные поверхностные потенциалы в массивах наночастиц золота на подложке из оксида индия-олова и массивах отверстий диаметром 100 нм в золотой пленке толщиной 20 нм на стеклянной подложке. Эффект был достигнут путем монохроматического облучения наноструктур при длинах волн ниже или выше уровня плазмонного резонанса. Полученный плазмоэлектрический поверхностный потенциал (т.е. электрохимический потенциал, накопленный частицей при электронном переносе, вызванном оптическим поглощением) достигает 100 мВ при освещении 100 мВт на квадратный сантиметр. Это может стать новым способом преобразования оптической энергии в электрическую и ускорить развитие оптико-электронных приборов, использующих такое преобразование.

Р.П. Сидоров

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Нанотехнологии

Смещение люминесцентного свечения супрамолекулярных ансамблей дискретных молекулярных декаядерных сульфидных комплексов золота (I)

Luminescence color switching of supramolecular assemblies of discrete molecular decanuclear gold (I) sulfido complexes. Franky Ka-Wah Hau, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 15900–15905.

Комплексы золота (I) — один из интереснейших классов комплексов, обладающих фотофизическими свойствами, крайне чувствительными к ядерности металлических центров и расстоянию металл — металл. В некотором смысле, они схожи с классами металлических наночастиц и квантовых точек, поскольку свойства наноструктурных материалов также сильно зависят от их размеров и форм. В то время как оптические и спектроскопические свойства металлических наночастиц и квантовых точек демонстрируют сильную зависимость от расстояний между частицами, свойства полиядерных комплексов золота (I) в основном зависят от ядерности и расстояния между центрами ядер золота (I) в пределах отдельных молекулярных комплексов или кластеров. В настоящее время исследования полиядерных комплексов золота проводятся часто, в то время как их иерархическая организация и наноструктура изучаются гораздо реже. Также крайне мало внимание уделяется изучению влияния межкластерной агрегации на оптические свойства. На основе собственного опыта в данной области, авторы полагают, что наноагрегаты с интересными люминесцентными свойствами и морфологией могут быть получены за счет рационального проектирования кластеров халькогенида золота. В рамках исследования проведен синтез и дана характеристика серии дискретных декаядерных сульфидных комплексов золота с алкильными цепочками различной длины на аминокислотных лигандах. Эти комплексы использовались для формирования супрамолекулярных (надмолекулярных) наноагрегатных образований при модуляции растворителя. Фотолюминесцентное свечение наноагрегатов, в зависимости от систем растворителей, изменялось от зеленого до желтого и красного. Изменение фотолюминесцентного свечения было изучено и сопоставлено с наноструктурными морфологическими трансформациями от сферической до кубической, что было зафиксировано с помощью методов просвечивающей и сканирующей электронной микроскопии. Подобные изменения фотолюминесцентного свечения не наблюдались в аналогичных комплексах с короткими алкильными цепочками. Авторы предполагают, что длинные алкильные цепочки играют ключевую роль в управлении супрамолекулярными наноагрегатными образованиями и эмиссионными свойствами декаядерных сульфидных комплексов золота. Считается, что длинные гидрофобные алкильные цепочки при различных системах растворителей вызывают образование супрамолекулярных наноагрегатных образований с различной морфологией и плотностью упаковки, что приводит к изменению степени взаимодействия Au (I) — Au (I), жесткости и эмиссионных свойств. Авторы считают, уникальные фотофизические свойства этого класса соединений должны стать основой для будущего проектирования и разработки люминесцентных наноматериалов и супрамолекулярных ансамблей.

Р.П. Сидоров

Самоорганизующиеся белки MmsF контролируют формирование наночастиц магнетита *in vitro*

Self-assembled MmsF proteinosomes control magnetite nanoparticle formation *in vitro*. Andrea E. Rawlings, Jonathan P. Bramble, Robyn Walker, Jennifer Bain, Johanna M. Galloway, Sarah S. Staniland. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16094–16099.

Магнитные наночастицы (MNPs) привлекают интерес исследователей в связи с возможностью практического применения в биомедицинской диагностике и терапии (контрастный реагент в МРТ, гипертермическое лечение опухолей, адресная доставка лекарственных веществ), биотехнологии и хранении данных. Но решающую роль в каждой отрасли играют конкретные магнитные и физические свойства MNPs. Как известно, чистый синтез наночастиц магнетита в условиях окружающей среды трудно контролировать. Авторы предлагают оригинальный подход. Магнитотактические бактерии — разнообразный, филогенетически не связанный класс бактерий, которые осуществляют производство цепей мономерных ферромагнитных кристаллов. Синтез наночастиц магнетита осуществляется под действием нескольких ключевых белков биоминерализации. Данные белки находятся в специализированных органеллах — магнетосомах. В недавних исследованиях был обнаружен главный белка-регулятор морфологии наночастиц в естественных условиях — MmsF. Первоначально он был идентифицирован в штамме *Magnetospirillum magnetotacticum* MS-1; его гомологи присутствуют в ряде различных магнитотактических бактерий и не проявляют существенной гомологии с любым другим известным семейством мембранных белков. В рамках исследования ученые выделили MmsF и два гомологичных ему белка из штамма *Magnetospirillum magnetotacticum* AMB-1. Полученный интегральный минеральный белок играет важную роль для контроля монодисперсности наночастиц. По мнению авторов, MmsF, в соответствии со своей ролью в естественных условиях, ответственен за глубокий контроль над размером частиц и однородностью оксида железа (магнетита) в химических реакциях осаждения. Два других гомологичных белка производят различные неprecизионные формы оксида железа, что демонстрирует их значительное отличие от MmsF, несмотря на высокую идентичность последовательностей и схожую иерархическую структуру. Таким образом, MmsF является крайне важной белковой добавкой для производства прецизионных наночастиц магнетита. Примечательно, что эти преимущественно альфа-спиральные пронизывающие мембрану белки обладают необыкновенно высокой стабильностью и водорастворимостью. Также они способны к самосборке в сферические агрегаты со средним диаметром 36 нм. Результаты исследования могут быть использованы в самых различных областях — от производства мембранных белков до транспорта лекарственных веществ.

А.В. Моисеев

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Промышленные биотехнологии

Масштабные законы, управляющие стохастическим ростом и делением одиночных бактериальных клеток

Scaling laws governing stochastic growth and division of single bacterial cells. Srividya Iyer-Biswas, Charles S. Wright, Jonathan T. Henry, Klevin Lo, Stanislav Burov, Yihan Lin, Gavin E. Crooks, Sean Crosson, Aaron R. Dinner, and Norbert F. Scherer. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 15912–15917.

Определение количественных закономерностей роста и деления одиночных клеток до сих пор является одной из наиболее важных задач в биологии. Традиционно для оценки таких закономерностей применялся анализ, основывающийся на исследовании специфических регуляторных сетей и простых эмпирических закономерностей, связывающих глобальную экспрессию генов с ростом клеток. В данной работе была получена линия *Caulobacter crescentus*, в которой ген *hfsA*, отвечающий за адгезию клетки к поверхностям, был включен в определенный хромосомный локус под контролем регулируемого промотера. Таким образом, управляя производством *hfsA* при активированном промотере можно было получить требуемую концентрацию прикрепившихся клеток на поверхности микрожидкостного устройства. Затем активация промотера прекращалась и в силу отсутствия экспрессии *hfsA* в дочерних клетках, они не могли прикрепиться к поверхности и смывались потоком. Таким образом предотвращалось скучивание клеток в поле зрения, являющееся обычной проблемой экспериментов с экспоненциальным ростом. Для измерений применялась фазово-контраст-

ная микроскопия. В одном эксперименте изображения получались со скоростью 1 кадр в минуту в течение трех суток для 20 полей зрения. Было разработано программное обеспечение для автоматического извлечения численных данных о росте и делении клеток из полученного массива изображений. С использованием этой комбинации технологий накопления и обработки данных, была получена ранее недостижимая точность измерений. Было обнаружено, что размеры индивидуальных клеток экспоненциально растут со временем. Установлено также, что они делятся по достижении критической величины 1,8 от начального размера, а не при достижении некоторого абсолютного значения их размера. К результатам наблюдений применена минимальная стохастическая модель, основанная на автокаталитическом цикле. Полученные закономерности могут быть сформулированы следующим образом: а) рост экспоненциален при сбалансированных благоприятных условиях; б) среднее время деления обратно пропорционально средней скорости роста; в) размер клетки при делении пропорционален ее изначальному размеру; г) распределение времени деления, нормированное на среднее, не зависит от температуры; д) распределение размеров клетки, нормированное на среднее, одинаково для всех моментов времени и значений температуры; е) коэффициент вариации размеров клетки для заданного начального размера растет как квадратный корень из времени. Проведенный анализ показывает, что исследуемые сложные биологические процессы имеют единую зависимость от временного масштаба, зависящего от температуры, при сбалансированных условиях роста.

А. В. Якименко

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Технологии материалов

Межфазное взаимодействие мод как причина увеличения критической температуры сверхпроводящего перехода в пленках FeSe на подложке SrTiO₃

Interfacial mode coupling as the origin of the enhancement T_c in FeSe films on SrTiO₃. J. J. Lee, F. T. Schmitt, R. G. Moore, S. Johnston, Y.-T. Cui, W. Li, M. Yi, Z. K. Liu, M. Hashimoto, Y. Zhang, D. H. Lu, T. P. Devereaux, D.-H. Lee, and Z.-X. Shen. Nature. 2014. Vol. 515. No 7526. P. 245–248.

Недавно было обнаружено, что в монослойных пленках селенида железа FeSe на подложках титаната стронция SrTiO₃ образуется щель в спектре возбуждений, характерная для сверхпроводников, причем эта щель образуется при температуре около 70 К, близкой к точке кипения азота (77 К). Эта температура является рекордно высокой для железосодержащих сверхпроводников. В частности, в объемном образце FeSe температура сверхпроводящего перехода составляет всего 8 К. Критическая температура T_c образования щели сигнализирует о возникновении куперовского спаривания электронов, т. е. о переходе материала в сверхпроводящее состояние. С целью выяснения роли подложки авторы провели изучение структуры SrTiO₃ методом фотоэмиссионной спектроскопии с высоким угловым разрешением. Результаты выявили неожиданные свойства пленочной системы FeSe/SrTiO₃, связанные с репликацией электронных энергетических зон из-за бозонных мод, которые ассоциируются с оптическими фононами кислорода в SrTiO₃. Эти фононы взаимодействуют с электронами FeSe, передавая только малые величины импульса (при рассеянии вперед). Такое межфазное взаимодействие поддерживает сверхпроводимость в большинстве возможных «каналов», в том числе посредством спиновых флуктуаций. Метод выращивания образцов описан в дополнительном приложении к статье. Представлены экспериментальные сечения Ферми-поверхности в разных точках зоны Бриллюэна (ЗБ) и температурные зависимости зонной структуры, полученные по результатам измерений на шести образцах. Структура энергетических зон, полученная из эксперимента, согласуется с более ранними исследованиями. Поверхность Ферми пленки FeSe имеет электронные карманы вблизи центра ЗБ (точка М) с дном, находящимся на 60 мэВ ниже энергии Ферми E_F , а также две почти вырожденные электронные зоны. Ниже дна зоны электронов имеется зона дырочных состояний. В центре ЗБ (точка Г) есть еще одна дырочная зона, вершина которой находится на 80 мэВ ниже E_F . Получена оценка критической температуры перехода $T_c = 58 \pm 7$. Наиболее интригующим результатом является появление реплик энергетических зон, смещенных на шкале энергий вниз на 100 мэВ. Интерпретация этих реплик влиянием оптической моды кислорода SrTiO₃ подтверждается исследованиями поверхностных электронных состояний в SrTiO₃, выполненными тем же методом и методом неупругого рассеяния нейтронов. По оценке авторов константа электрон-фононного взаимодействия довольно велика (~0,5), несмотря на то, что в данном случае лишь небольшая часть фононов участвует во взаимодействии с электронами при рассеянии вперед. Для пленок FeSe с двумя и более монослоями образование энергетической щели не наблюдается.

Г.В. Дедков

Высококоллеktivная релаксация напряжений в двумерных мягких коллоидных кристаллах

Highly cooperative stress relaxation in two-dimensional soft colloidal crystals. Berend van der Meer, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 43. P. 15356–15361.

Релаксация напряжений в кристаллических твердых телах происходит за счет возникновения и диффузии дефектов. Известен механизм релаксации стресса от внешней нагрузки путем разрастания и движения решеточных дислокаций, но относительно плохо изучен отклик кристалла на напряжения внутреннего происхождения. Был исследован экспериментально и смоделирован математически процесс релаксации сильно локализованного напряжения в двумерных мягких коллоидных кристаллах. Чтобы отличить формирование локальной мобильной зоны в решетке от вызванного возмущением стеклования и потери решеточного порядка применялся двумерный эквивалент критерия Линдемана. В эксперименте в качестве коллоидных частиц использовался полиметилметакрилат с поверхностным слоем полигидроксистеариновой кислоты. Частицы во взвеси получали поверхностный заряд и за счет потенциала отталкивания Юкавы в квазидвумерном слое формировалась кристаллическая структура. Для создания внутреннего напряжения применялся оптический пинцет (оптическая ловушка) на базе алюмо-иттриевого лазера, легированного неодимом. Активное возбуждение одиночной частицы с помощью оптического пинцета дало набор высококоллеktivных механизмов релаксации напряжений. Эти процессы проявляются в форме незамкнутых цепочек коллективно движущихся частиц, а также замкнутых колец подвижных частиц, происходящих либо от совместных вращений на границах временно сгенерированных зерен, либо путем замыкания открытой цепочки через аннигиляцию пары вакансии — междоузлия. Также было проведено математическое моделирование броуновского движения для плоской структуры из 2500 частиц Юкавы. Моделировалось внешнее воздействие на отдельную частицу и случай термических флуктуаций без внешнего воздействия. Было обнаружено, что такие же коллективные события, как при активном возбуждении одиночных частиц, возникают в кристаллах, возбужденных только термальными флуктуациями. Показано, что релаксация через кольцевые структуры не приводит к формированию дефектов решетки, таким образом оказывая только ограниченное влияние на стабильность твердого состояния, в то время как незамкнутые цепочки оставляют локальные нарушения решетки в форме несвязанных вакансий и междоузлий. При этом замкнутые кольцевые перестановки наблюдаются гораздо чаще как для стимулированного возмущения, так и для термических флуктуаций, но в незамкнутые структуры вовлекается на порядок большее количество частиц. Обсуждены причины небольших расхождений между данными эксперимента и моделирования. Полученные результаты демонстрируют, как локальные напряжения могут вызывать крупномасштабную кооперативную динамику в двумерных мягких коллоидных кристаллах и проливают свет на механизмы стабилизации в сверхмягких кристаллах.

А.В. Якименко

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Технологии материалов

Динамическая фасилитация управляет динамикой стеклования во взвешях коллоидных эллипсоидов

Dynamical facilitation governs glassy dynamics in suspensions of colloidal ellipsoids. Chandan K. Mishra, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 43. P. 15362–15367.

Решение вопроса о том, является ли формирование стекол из жидкостей процессом динамическим или термодинамическим, представляет большой интерес для современной физики конденсированного состояния. В течение десятилетий в теоретических работах доминировал термодинамический подход, но чисто кинетическая перспектива теории динамической фасилитации в последнее время приобретает вес. Недавние эксперименты и моделирование показали ее важность для простых модельных систем, построенных из сферических частиц. Для подавляющего большинства жидкостей наблюдается анизотропия форм частиц и взаимодействий, поэтому необходимо исследовать динамическую фасилитацию в сложных формователях стекла. Теория динамической фасилитации была применена к системам с ориентационными степенями свободы и анизотропным характером притяжения. С помощью анализа экспериментов на коллоидных эллипсоидах показано, что динамическая фасилитация играет главную роль в ориентационной и трансляционной релаксации. В эксперименте использовались полистироловые эллипсоидальные частицы с большой осью 2,1 мкм и малой 1 мкм в растворе натрий-карбоксиметилцеллюлозы. Образцы формировались в плоских ячейках осаждением эллипсоидов до формирования монослоя. Производилась фото- и видеофиксация с помощью оптического микроскопа. Ориентация и координаты центра масс эллипсоидов были получены в программе ImageJ, построение траекторий и последующий анализ — в MATLAB. Применяя к экспериментальным данным принятую теоретическую модель, показано, что трансляционные возбуждения имеют более выраженное влияние на ориентационную динамику, чем наоборот. Установлено, что пространственное расщепление трансляционных и вращательных динамических неоднородностей является следствием пространственного расщепления фасилитации в этих степенях свободы. Показано, что повторный переход стеклования в трансляционной и ориентационных степенях свободы с ростом силы деплеционного взаимодействия может быть предсказан исходя из зависимости концентрации возбуждений от поверхностной плотности, не используя информацию о времени релаксации. Предсказательные возможности этого подхода убедительно демонстрируют, что наблюдается предусмотренное теорией динамической фасилитации однозначное соответствие между концентрацией возбуждений и временем релаксации. Опираясь на полученные результаты можно проверить положения теории динамической фасилитации на сложных коллоидных системах. Возможен поиск взаимосвязей между структурным порядком и фасилитацией. В частности, представляет интерес, насколько локальный порядок определяет пространственное возникновение возбуждений.

А.В. Якименко

Многообразие структурных форм полимерных гелей в микросферах, обусловленное взаимным влиянием процессов фазового разделения, смачивания и гелеобразования

Multiple patterns of polymer gels in microspheres due to the interplay among phase separation, wetting, and gelation. Miho Yanagisawa, Shinpei Nigorikawa, Takahiro Sakaue, Kei Fujiwara, Masayuki Tokita. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 15894–15899.

Контролирование формы и размеров биополимерных гелей в мезодиапазоне представляет собой важную практическую задачу. В литературе описан ряд способов получения полимерных гелей, характеризующихся заданным размером, однако существующие способы требуют использования специализированного оборудования и не всегда применимы для получения биополимерных гелей. В данной работе описано самопроизвольное образование полимерных микрогелей в объеме микросфер. Авторы использовали желатин, один из самых распространенных природных полимеров, и полиэтиленгликоль, известный своей способностью вызывать фазовое разделение в смесях с различными биополимерами, например белками или ДНК. Смесь желатина с полиэтиленгликолем заключали в микрокапли, стабилизированные липидным слоем, и диспергировали в масляной среде. Для стабилизации микрокапель использовали 2 типа цвиттерионных липидов: 1,2-диолеил-*sn*-глицеро-3-фосфоэтаноламин (отрицательно заряжен в воде) и 1,2-диолеил-*sn*-глицеро-3-фосфатидилхолин (электронейтрален в воде). При уменьшении температуры в такой системе происходит фазовое разделение и золь-гель переход желатина, причем гелеобразование может протекать как после фазового разделения, так и одновременно с ним. На процесс образования микрогеля также оказывает влияние взаимодействие между полимерами и липидной мембраной. Изучено влияние скорости снижения температуры, размера микрокапель и состава полимерной смеси на структурирование микрогелей желатина в объеме микрокапель. Тип липида, образующего оболочку капли, оказывает влияние на кинетику фазового разделения, смачивание смесью полимеров внутренней поверхности капсулы и гелеобразование при снижении температуры. Совокупность данных процессов в конечном итоге определяет геометрию формирующегося микрогеля. В изученной системе наблюдали образование как полых микрокапсул, толщину оболочки которых можно регулировать, изменяя размер микрокапель, так и различных ассиметричных форм, таких как полусферы и формы, отвечающие кинетически замороженным состояниям, например диски и звезды. В работе предложены способы получения микрогелей желатина различной геометрии. Полученные результаты позволяют регулировать форму микрогеля за счет изменения поверхностного натяжения на границе раздела фаз, эластичности образующегося геля, а также смачиваемости внутренней стенки капсулы раствором желатина.

Т.В. Панова

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Технологии материалов

Ограничения размера самособранных коллоидных структур, полученных с помощью специфических взаимодействий

Size limits of self-assembled colloidal structures made using specific interactions. Zorana Zeravcic, Vinodhan N. Manoharan, and Michael P. Brenner. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 15918–15923.

В природе сложные структуры, такие как биомолекулы или оболочки вирусов производятся с высокой точностью путем иерархической сборки. Важной задачей является перенос этого процесса на искусственные системы, что подразумевает исследование фундаментальных вопросов эффективности и масштабируемости самосборки. В работе были получены ограничения на размер структур контролируемой величины и формы, которые можно получить путем самосборки из коллоидных частиц с короткодействующими взаимодействиями. Так же получена оценка величины выхода годных структур в процессе самосборки, с применением общей теории возбужденных состояний, конкурирующих с основным состоянием (требуемой структурой) в процессе сборки. Моделировалась система, состоящая из сферических коллоидных частиц, изотропно покрытых цепочками ДНК, контролирующими взаимодействия между частицами. В численном расчете использовался метод диссипативной динамики частиц. Моделировалось от 48 до 96 сферических частиц с потенциалом Леннарда-Джонса при различных температурах. Показано, что структуры разнообразной формы, состоящие из десятков частиц, могут формироваться с высоким выходом (>50%), при условии, что каждая частица в структуре связывается только с соседними. При этом для определенных температур получен высокий выход для сложных структур в десятки частиц, что необычно, при учете роста количества низкоэнергетических состояний, конкурирующих с заданным основным состоянием, с ростом количества частиц. Для объяснения этого результата была предложена теоретическая модель, в которой низкоэнергетические локальные минимумы, конкурирующие с основным состоянием системы, состоят из конфигураций, в которых частицы структуры основного состояния переставлены местами. Для максимальной специфичности необходимо использовать отдельную цепочку ДНК на каждый контакт (каждая частица в кристалле имеет порядка шести соседей, именно такое количество разных цепочек на частицу минимально необходимо). Хотя на практике ограничение на количество разных цепочек ДНК на одну частицу выше требуемого, плотность цепочек оказывается недостаточна для исключения кинетических эффектов. Однако базовые схемы самосборки возможно реализовать с помощью не максимальных алфавитов, в этом случае на одну частицу будет приходиться меньше цепочек ДНК, чем контактов. При правильном выборе не максимальный алфавит уникальным образом определяет получающуюся структуру, хотя и с большим количеством низкоэнергетических возбужденных состояний, что снижает выход. С помощью моделирования показано, что с использованием не максимального алфавита выход может быть все же значительно выше, чем для случая неспецифических взаимодействий. Увеличить выход можно также отказавшись от равновесности взаимодействий (обратимости связи). Дальнейшими направлениями развития в данной области авторы считают адаптацию природных алгоритмов коррекции ошибок и использования аллостерических взаимодействий.

А. В. Якименко

Понимание энтропии формы через локальную плотную упаковку

Understanding shape entropy through local dense packing. Greg van Anders, Daphne Klotsa, N. Khalid Ahmed, Michael Engel, and Sharon C. Glotzer. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. E4812–E4821.

Структура многих систем в природе определяется с упорядочиванием большого количества частиц определенной одинаковой формы. Упорядочивание анизотропных форм в сложные кристаллы, жидкие кристаллы и даже квазикристаллы было продемонстрировано в недавних компьютерных моделях и экспериментах по исследованию коллоидов. Понять механизм упорядочения достаточно сложно из-за того, что форма влияет на структуру на разных уровнях. Во-первых, форма клетки или наночастицы влияет на ее собственные поверхностные, химические и прочие свойства. Во-вторых, форма обуславливает пока еще мало изученный энтропийный эффект (максимизация энтропии в системе в соответствии с формой), который авторы называют «энтропией формы». По-видимому, происходит появление эффективных направленных энтропийных сил, обуславливающих упорядочивание соседних частиц, однако эти силы не были ни строго определены, ни измерены для базовых систем. В лабораторных условиях сложно вычлнить этот эффект, но вероятно, что энтропия формы существенна в процессе плотной упаковки скученных анизотропных частиц. В работе проведено численное моделирование систем с учетом энтропийных сил. Направленные энтропийные силы между частицами были описаны с помощью метода потенциала средней силы и момента, было применено обобщение теории Асакуры и Осава. Численно показано, что форма через направленные энтропийные силы определяет фазовое поведение систем анизотропных частиц при их скоплении. Направленные энтропийные силы определены в базовых системах и вычислены для нескольких систем твердых частиц. Их величина порядка единиц значений тепловой энергии в начале упорядочивания, что ставит направленные энтропийные силы на один уровень с традиционными деплеционными силами, силами Ван-Дер-Ваальса и другими собственными взаимодействиями. Для экспериментальных систем с указанными взаимодействиями дано прямое численное доказательство вклада в самосборку энтропийных эффектов формы. Предложена методика определения энтропийных сил с помощью наблюдения траекторий коллоидных частиц с помощью конфокальной микроскопии и последующего получения из этих данных потенциала средней силы и момента, фактически описывающего усредненную по времени эволюцию пар частиц как в монодисперсных системах, так и в коллоидных системах с деплеционным взаимодействием. Понятие направленных энтропийных сил применено для проведения различия между самосборкой и процессом упаковки. Механизм, обуславливающий направленные энтропийные силы — это максимизация энтропии путем оптимизации локальной упаковки частиц. Показано, что этот механизм имеет место для широкого класса систем. Было рассмотрено как поведение монодисперсных коллоидных систем с частицами многогранной и граненой сферической формы, так и деплеционных систем с малой концентрацией коллоидных частиц. В обоих случаях частицы показывают тенденцию к оптимизации упаковки. Отмечено, что описание деплеционных систем с помощью направленных энтропийных сил не ограничивается случаем много меньших, чем коллоидные, деплеционных частиц. Единственно рассмотрено вызванное энтропией поведение частиц различных форм с использованием работ Керквуда, Онсагера, Асакуры и Осава.

А. В. Якименко

ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Химические технологии

Получение ароматических соединений деполимеризацией окисленного лигнина с помощью муравьиной кислоты

Formic-acid-induced depolymerization of oxidized lignin to aromatics. Alireza Rahimi, Arne Ulbrich, Joshua J. Coon, Shannon S. Stahl. *Nature*. 2014. Vol. 515. No 7526. P. 249–252.

Лигнин представляет собой ароматический биополимер, на долю которого приходится почти 30% органического углерода на Земле. Долгое время лигнин считался отходом целлюлозно-бумажной промышленности и сжигался с целью получения энергии для рекуперации производных целлюлозы. Но деполимеризация может служить основой более продуктивного использования лигнина, — например получения ценных ароматических соединений, которые являются сырьем для дальнейшего использования. Однако сложность и нерегулярность структуры лигнина затрудняет химические превращения, и известные способы деполимеризации обычно дают смесь различных продуктов с низким выходом (меньше 10–20% по массе). В статье описан способ деполимеризации окисленного лигнина в мягких условиях водной муравьиной кислотой, который обеспечивает выход низкомолекулярных ароматических соединений больше 60%. Промежуточные и конечные вещества в ходе исследования структурно анализировались и идентифицировались с помощью гель-хроматографии, масс-спектроскопии высокого разрешения в сочетании с жидкостной хроматографией, а также путем сравнения с подлинными образцами известного строения. Производные синрингила, гваяцила и *l*-гидроксифенила оказались доминирующими в продуктах деполимеризации лигнина. Интересной оказывается корреляция выхода продуктов с количеством связей $C_{\beta}-O$ между ароматическими фрагментами в молекуле лигнина, что повышает привлекательность только определенного растительного сырья, содержащего более 85% лигнина со связями $C_{\beta}-O$, а не $C_{\alpha}-O$. Такое сырье уменьшает коксование и обугливание, повышает конверсию и облегчает разделение продуктов в процессах с гетерогенным катализом (например, гидрирования, декарбоксилирования, декарбонилирования и т. д.). В работе также рассматриваются вопросы методов разделения биомассы в целлюлозно-бумажной промышленности. Большинство существующих технологических методов, начиная с классического крафт-процесса и заканчивая современной органосольвентной делигнификацией, значительно изменяют или повреждают структуру лигнина, тем самым приводя к существенному снижению и даже полной потере структурных связей $C_{\beta}-O$. В связи с этим необходима разработка новых методов разделения биомасс.

К.С. Дотолева

Создание углерод-углеродных связей путем использования биокаталитического цикла конденсации метанола

Building carbon-carbon bonds using a biocatalytic methanol condensation cycle. Igor W. Bogorad, Chang-Ting Chen, Matthew K. Theisen, Tung-Yun Wu, Alicia R. Schlenz, Albert T. Lam, James C. Liao. *PNAS*. 2014. Vol. 111. No 45. P. 15928–15933.

В связи с активно продолжающейся разработкой крупных запасов природного газа по всему миру, эффективное использование соединений с одним атомом углерода в органическом синтезе позволило бы снизить стоимость сырья для нефтехимической промышленности. Метанол, который в настоящее время получают из метана, является сырьем для синтеза высших соединений углерода. Проведение этих процессов требует достаточно высокой температуры и давления, что значительно увеличивает производственные расходы, а биологические способы использования метанола являются неэффективными. Авторы статьи разработали биокаталитический процесс конденсации метанола, который позволяет эффективно превращать его в высшие спирты и другие соединения углерода, а условия проведения являются весьма привлекательными для применения в промышленности. Данный метод, названный «циклом конденсации метанола» (МСС — methanol condensation cycle), представляет собой комбинацию неокислительного гликолиза и рибулозомонофосфата для превращения метанола в высшие спирты или другие ацетил-КоА-производные с использованием ферментативных реакций в АТФ-независимой системе. Использование изотопной метки углерода ^{13}C позволило установить структуру каталитического цикла. С помощью этого процесса было успешно осуществлено превращение метанола в этанол и *n*-бутанол с полным сохранением конфигурации атома углерода в системе без АТФ. Реакция может катализироваться тремя классами ферментов оксидаз: алкогольоксидазами, хинон-зависимыми метанолдегидрогеназами, и НАД-зависимыми метанолдегидрогеназами, но только последний класс ферментов обеспечивает необходимое образование этанола или *n*-бутанола в ходе цикла. Полученные данные подтвердили высокую функциональность МСС, но требуется тщательный подбор подходящих условий для реализации нужной кинетики цикла, так как существует высокая вероятность возникновения «кинетической ловушки». В отличие от систем, для реализации которых необходимо присутствие микроорганизмов, метод, описанный в данной статье, обеспечивает более высокие теоретические выходы продукта, производительность и простоту управления условиями. Рост добычи природного газа делает метанол более доступным сырьем. В связи с этим вышеописанный процесс представляет большой интерес для промышленности.

К.С. Дотолева

СОЦИАЛЬНЫЕ НАУКИ · Психологические науки

Бессознательное распознавание младенцами социально значимых сигналов по изображениям глаз

Unconscious discrimination of social cues from eye whites in infants. Sarah Jessen, Tobias Grossmann. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16208–16213.

Во время коммуникации с другими людьми, человеческие глаза обеспечивают две важнейшие функции: восприятие эмоционального статуса собеседника и его фокус внимания. При рассмотрении лиц, направление нашего взгляда первоочередно привлечено глазами другого человека. При этом собственно распознавание наиболее биологически значимых эмоций, например, страха, реализуется неосознанно, с участием определенных подкорковых структур мозга. Однако до настоящего момента не было получено объективных доказательств формирования данной функции в раннем онтогенезе человека, что могло бы определить ее как основополагающую особенность, характерную для социального образа жизни. В данном исследовании изучались вызванные потенциалы, связанные с событием (ERPs), у младенцев в возрасте семи месяцев с целью установления их способности к различению социально значимых стимулов и определению направления взгляда другого человека. В качестве стимулов использовались изображения глаз людей в состоянии страха, демонстрируемые на протяжении 50 мс, что находится ниже уровня порога восприятия для детей данного возраста. Для контроля предъявляли изображения глаз людей без значительных эмоциональных проявлений на протяжении того же интервала времени. В первой серии экспериментов регистрировались затылочное отведение P1, связанное с ранними процессами обработки информации зрительной корой, и лобные отведения Pс и Nс, отражающие процессы ориентировочного внимания у младенцев. Амплитуда ответа в данных отведениях была ниже при предъявлении изображений, характеризующих страх, что демонстрирует способность семимесячных младенцев различать данное эмоциональное проявление по визуализации глаз других людей. Во второй серии эксперимента в обоих случаях предъявлялись изображения глаз людей в состоянии страха при различном направлении взгляда по направлению к испытуемому: прямо и отведенным в сторону. Амплитуда ответов в отведении Nс для стимулов с направлением взгляда прямо оказалась выше, что говорит о способности младенцев различать направление взгляда другого человека. Помимо этого, продемонстрировано, что амплитуда ответа для отведения Nс имеет наибольшие отличия в обеих сериях эксперимента. Данный феномен можно интерпретировать как различия в реакции миндалины на данные стимулы, что говорит о ее роли в процессах бессознательного восприятия эмоционального статуса человека. Результаты исследования согласуются с ранее полученными наблюдениями на взрослых испытуемых, где показана определяющая роль взаимодействия лобных долей и миндалины в неосознаваемом восприятии страха. Полученные сведения позволяют пролить свет на формирование способности распознавания социально значимых биологических стимулов в ходе онтогенеза, что важно для понимания общих принципов организации восприятия информации человеком.

А.Ю. Ольховик

Неосознанная информация влияет на правильность решений, но не на уверенность в них

Unconscious information changes decision accuracy but not confidence. Alexandra Vlassova, Chris Donkin, and Joel Pearson. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 16214–16218.

Одной из фундаментальных задач понимания человеческого поведения является то, что человек — существо не рациональное и не всегда действует в своих интересах. Предполагались попытки моделирования нелогических и непредсказуемых решений. Спорная, но привлекательная идея о том, что бессознательная информация может быть обработана и оценена и способна повлиять на поведение, имеет историю. Несмотря на популярность, таким предположениям не хватает строгой экспериментальной и доказательной базы. Предыдущие исследования показали тесную зависимость между правильностью решений и уверенностью в их принятии. Например, у приматов обе характеристики были прямо пропорциональны качеству и количеству предъявляемых фоновых визуальных стимулов. Межвидовые исследования поведения и нервной системы подтверждают простую кумулятивную модель, согласно которой сознательное решение принимается после того, как накоплен определенный уровень «фоновой», т. е. неосознаваемой информации. Авторы использовали простую модель сознательного принятия решений и разработали задачу, в которой можно было измерить количество полученной информации как при осознаваемом, так и при неосознаваемом вариантах принятия решения. Используя оригинальную дихоптическую парадигму подавления для измерения сознательных и бессознательных признаков, авторы показали, что бессознательная информация может накапливаться в течение долгого времени и интегрироваться с сознательными элементами, представленными испытуемому до или после, и может повлиять на правильность решения. При этом бессознательная информация может быть использована ограниченно и только тогда, когда также присутствует некоторая сознательная информация, относящаяся к принимаемому решению, что расходится с предыдущими исследованиями. Эти данные хорошо соответствуют простой диффузионной модели, в которой скорость и изменчивость накопления фактических данных снижается, но не исключается путем удаления момента осознания. Показано, что в бессознательном состоянии увеличение правильности принятых решений не сопровождается соответствующим увеличением уверенности в их правильности. Это позволяет предположить, что люди обладают слабым осознанием и пониманием своих мыслительных процессов и затрудняются в принятии решений на основании неосознаваемых данных, поскольку наличие осознанности требуется в процессе накопления информации для корректной оценки собственного уровня знаний. Более того, люди даже не отдают себе отчета в том, что принимают решения, используя бессознательно полученную информацию, и что она также влияет на принятые ими решения и может существенно повысить или понизить их корректность.

Н.В. Лупачева

СОЦИАЛЬНЫЕ НАУКИ · Социальная и экономическая география

Динамическое картографирование населения с помощью данных мобильной телефонии

Dynamic population mapping using mobile phone data. Pierre Deville, Catherine Linard, Samuel Martin, Marius Gilbert, Forrest R. Stevens, Andrea E. Gaughan, Vincent D. Blondel, and Andrew J. Tatem. PNAS. 2014. Vol. 111. No 45. P. 15888–15893.

За последние десятилетия дистанционное зондирование, геоинформационные системы и системы глобального позиционирования изменили методы исследования и моделирования пространственно-временного распределения населения. В то же время, картографирование населения по-прежнему ограничено логистикой переписей и опросов. Получить детальные данные о пространственном изменении плотности населения на промежутках порядка дней, недель, месяцев и даже лет оказывается сильно затруднительным. Это ограничивает применение популяционного картографирования там, где нужна информация в режиме реального времени, например в ситуации катастрофы, конфликта или эпидемии. Уровень использования населением мобильных телефонов очень высок по всему земному шару, поэтому изучение пространственно-временного распределения мобильных звонков, с сохранением анонимности на уровне базовых станций сотовой связи, может дать лучшие результаты, чем методы, основанные на переписи населения, при условии должной калибровки данных. На массиве данных более чем 1 млрд звонков из Португалии и Франции показано, как можно провести прямые оценки пространственной и временной

зависимости плотности населения в национальном масштабе и как эти оценки соотносятся с другими методами картографирования. Для Португалии анализировалась плотность уникальных пользователей сети, для Франции — плотность телефонных вызовов. Получение данных по плотности телефонных звонков существенно менее трудоемко, однако при этом несколько уменьшается точность. Текстовые сообщения в статистике не учитывались. Территории разбивались по методу Вороного. Была принята модель степенной зависимости плотности населения от плотности уникальных пользователей и звонков. Показатель и масштабный коэффициент получались регрессией по всем ячейкам разбиения для ночной плотности пользователей сети, или средней от плотности звонков за период. Плотность населения для регрессии была получена из данных переписей. С помощью вычисленных параметров модели было получено пространственно-временное распределение для других периодов времени. Сравнивались разрешение и точность для дистанционного зондирования и анализа данных мобильной связи. Сравнение карт, полученных обоими методами, показывает хорошее совпадение в масштабе страны. В масштабе города данные по мобильной связи обладают лучшим пространственным разрешением в силу высокой плотности базовых станций в густонаселенных районах. Учитывая, что такие данные собирают операторы сотовой связи по всему миру, в перспективе возможно картографировать существующее и изменяющееся распределение населения на относительно коротких временных интервалах. Тем самым, становятся возможны новые применения картографирования и понимание схем и процессов популяционной географии в режиме, близком к реальному времени.

А.В. Якименко

Еженедельный журнал Российской ассоциации содействия науке

НАУКА В мире

**Следующий номер журнала выйдет
2 декабря 2014 года**