

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»
Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова

Страницы истории

Выпуск 2

Биологическая наука в ПИЯФ

Гатчина
2017

Страницы истории. Выпуск 2.

Биологическая наука в ПИЯФ. – Гатчина: Издательство ФГБУ «ПИЯФ» НИЦ «Курчатовский институт», 2017. – 224 с.; 66 ил.

Редактор-составитель
кандидат химических наук Г. А. Багиян

Научные редакторы:
В. Л. Аксенов, А. Л. Коневега, С. В. Саранцева

Настоящий сборник, продолжающий серию «Страницы истории», содержит в основном статьи, подготовленные к 50-летию Отделения молекулярной и радиационной биофизики ПИЯФ НИЦ «Курчатовский институт», которое Институт отмечал 9 декабря 2014 года. В издание наряду с научными обзорами вошли очерки, отчеты, персоналии, рассказывающие об истории становления и развития биологической науки в Институте.

Редакционно-издательский совет:

В. Л. Аксенов – член-корреспондент РАН, научный руководитель Института (председатель);
С. В. Саранцева – доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе (ученый секретарь);
Г. Д. Алхазов – доктор физико-математических наук, заместитель руководителя Отделения физики высоких энергий;
Г. А. Багиян – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник Отделения молекулярной и радиационной биофизики;
А. А. Береснев – и. о. начальника издательско-полиграфического отдела;
В. В. Воронин – доктор физико-математических наук, заместитель директора по научной работе;
В. Ф. Ежов – кандидат физико-математических наук, руководитель Отделения перспективных разработок;
К. Н. Ермаков – кандидат физико-математических наук, ведущий научный сотрудник Отделения перспективных разработок;
К. А. Коноплев – кандидат технических наук, главный научный сотрудник отдела физики и техники реакторов;
Л. Н. Липатов – академик РАН, руководитель Отделения теоретической физики;
Д. Ю. Минкин – доктор технических наук, директор Института;
Ю. Н. Новиков – доктор физико-математических наук, заведующий Лабораторией физики экзотических ядер Отделения физики высоких энергий;
Е. Ю. Орбец – главный редактор издательско-полиграфического отдела;
В. В. Федоров – доктор физико-математических наук, заведующий Лабораторией рентгеновской и гамма-спектроскопии Отделения нейтронных исследований

Предисловие

Неумолимо быстро бежит время. Кажется, совсем недавно в новеньком, пахнувшем свежей краской и сыростью корпусе 50 филиала Физико-технического института им. А. Ф. Иоффе АН СССР (ФТИ) обживались первые биологические лаборатории, а за окном уже середина второго десятилетия XXI века, и нам стукнуло уже целых полвека. В отличие от нас, ветеранов Радиобиологического отдела – Отделения молекулярной и радиационной биофизики (РБО–ОМРБ), для молодой гатчинской биологической поросли имена таких знаковых фигур в нашей истории, как С. Е. Бреслер, М. Е. Лобашев, И. А. Захаров, В. Н. Фомичев, почти так же удалены во времени, как имена Шумахера, Ломоносова или Авогадро, и роль и дела конкретные первых воспринимаются молодежью весьма неопределенно. В связи с этим очень полезной и своевременной оказалась инициатива В. А. Ланцова с вводом в оба тома «Бреслеровских чтений» раздела воспоминаний учеников об Учителе и о себе в контексте горячих с ним контактов по работе. Читать эти мемуары интересно еще и потому, что они хорошо передают атмосферу тех далеких лет, когда в науку шло и проявляло свой талант послевоенное поколение молодежи, опьяненное вместе со своими родителями еще недавней победой в войне и с какой-то необычайно сильной жадой знаний. Эта традиция была продолжена в вышедшем в 2008 году сборнике очерков «Биологическая наука ПИЯФ в портретах ее лидеров», в котором была сделана попытка оценить вклад в становление молекулярной биологии и генетики в Институте С. Е. Бреслера, В. Н. Фомичева, В. А. Ланцова, ушедших к тому времени от нас в мир иной. Книга содержит воспоминания учеников и коллег о тесных рабочих и околорабочих взаимодействиях с этими лидерами.

Однако к настоящему времени в ОМРБ выросло и созрело следующее поколение ученых, продолживших и развивших идеи своих коллег-учителей. Время это выдвинуло и новых творчески активных личностей. В настоящем юбилейном сборнике предоставляется слово новому поколению научных лидеров ОМРБ, находят отражение результаты их деятельности и критические взгляды на те области науки, которые попадают в сферу их профессиональных интересов.

Редакция практически не ограничивала авторов ни в объеме, ни в конкретных формах подачи материалов, поэтому в структуру сборника наряду с традиционными научными обзорами включены очерки, отчеты, персоналии в виде развернутой оценки пройденного полувекового пути от РБО к ОМРБ. Отдельное место в книге уделено также ранним периодам творчества С. Е. Бреслера и М. Е. Лобашева, послужившим притягательной базой для формирования вокруг них научных школ. За эти материалы редакция отдельно благодарит Любовь Семеновну Бреслер и Илью Артемьевича Захарова-Гезехуса.

Редакционно-издательский совет

50 лет Отделению молекулярной и радиационной биофизики

За несколько недель до 50-летнего юбилея ОМРБ в Институте началась обычная подготовительная суэта. Уточнялась программа мероприятий главного дня торжеств, центром которых должен был стать общеинститутский семинар 9 декабря 2014 года. Сотрудники библиотеки ФГБУ «ПИЯФ» НИЦ «Курчатовский институт» готовили выставку «50 лет ОМРБ в фотографиях и публикациях». В самом отделении начался сбор материалов для юбилейного сборника «Биологическая наука в ПИЯФ». Пришлось основательно потрудиться и в институтском архиве в поисках документальных следов становления ОМРБ. Искренне благодарим архивариусов за внимание к нашим проблемам, как и библиотекарей Института за весьма содержательную выставку. В их отношении явно проявились добрая готовность и сопричастность к нашим делам, особенно важные в такие памятные юбилейные дни.

Мероприятие открыл директор Института член-корреспондент РАН В. Л. Аксенов, поздравив участников семинара с юбилеем. В выступлении он сделал акцент на более полном использовании биологами базовых установок Института для развития существующих междисциплинарных связей физиков, биологов, медиков.

Затем выступил руководитель ОМРБ д. б. н. В. Г. Королев с кратким изложением истории и нынешнего состояния отделения, отметив, что сегодня в ОМРБ 13 лабораторий, в которых работает 190 человек: 16 из них доктора наук, а 66 – кандидаты наук.

И покатился семинар традиционно с приветственными адресами, яркими воспоминаниями гостей о плодотворных годах сотрудничества с РБО–ОМРБ. Слово держали академики И. А. Захаров, М. М. Левитин, В. С. Баранов, д. м. н. Э. Э. Звартау, М. М. Шавловский, д. ф.-м. н. В. К. Иванов, ряд сотрудников ОМРБ.



В. Л. Аксенов



В. Г. Королев

Ближе к середине мероприятия В. Л. Аксенов передал поздравления юбилярам от президента НИЦ «Курчатовский институт» М. В. Ковальчука, а В. Г. Королев зачитал телеграммы приветствий от наших коллег из Объединенного института ядерных исследований, Института молекулярной генетики РАН, Государственного научно-исследовательского института генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Радиобиологического общества Украины и Института клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины.

Дорогой читатель, в этом обязательном, но, казалось бы, рядовом событии была одна примечательная особенность: внимавшая докладчикам аудитория, заполнившая актовЫй зал Института, состояла примерно на две трети из нынешних и на одну треть из бывших сотрудников ОМРБ. Со многими из них не довелось видеться ни один десяток лет, и встреча ветеранов в актовом зале всколыхнула теплые чувства этим возвращением в атмосферу наших молодых лет, когда мы дни, а зачастую и ночи до истощения проводили в своих лабораториях в поисках ответов на вопросы, которые нам ставила природа. Эти впечатления сродни тому, когда человек, утомленный скачкой по жизненным ухабам, вдруг оказывается в местах своего защищенного родителями детства, романтической юности. А вечером того дня состоялся фуршет, на котором эта атмосфера творческого братства приятно углубилась. На следу-

ющее утро уже была новая пища для серого вещества естествоиспытателей ОМРБ.

История развития биологии в Институте неразрывно связана с историей развития молекулярной биологии и генетики в стране. К середине XX века в связи с бурным развитием ядерной физики и техники радиобиология сформировалась в самостоятельную отрасль науки, которой предстояло изучать радиационное поражение многоклеточных организмов при их тотальном облучении, закономерности и причины возникновения отдаленных последствий облучения, выяснять причины разной радиочувствительности организмов, устанавливать роль радиации в возникновении вредных мутаций. Важно было также решать такие практические задачи, как изыскание средств защиты организма от излучений и путей его пострadiационного восстановления от повреждений.

В 1954 году было разработано техническое задание на строительство корпуса будущего РБО филиала Физико-технического института АН СССР (ФТИ) в Гатчине. Далее была выбрана площадка для его строительства, и по распоряжению Президиума АН СССР от 24.08.1955 года началось проектирование корпуса РБО. Однако размеренные планы становления новой отрасли были подхлестнуты произошедшей 29 сентября 1957 года аварией на химкомбинате «Маяк» в городе Озерске, где в емкости для радиоактивных отходов произошел взрыв, выбросивший в воздух 20 МКи радиоактивных веществ с большим содержанием плутония в виде аэрозолей, газов и механических взвесей (для сравнения: во время Чернобыльской аварии было выброшено примерно 50 МКи радиоактивности). С целью оценки возможных последствий этой аварии для здоровья людей по стране была организована сеть первичных лабораторий: сразу же после аварии в Москве в 1957 году создается лаборатория радиационной генетики при Институте биофизики АН СССР. В мае 1958 года был организован филиал Ленинградского научно-исследовательского института радиационной гигиены, и, наконец, 22 августа 1958 года Постановлением ЦК КПСС и Совета Министров СССР предусматривалось создание Института медицинской радиологии АМН СССР в Обнинске, организация РБО в Институте атомной энергии и переход от проектирования к строительству РБО в филиале ФТИ в Гатчине. В это же время в Москве создается Институт радиационной и физико-химической биологии АН СССР, в будущем Институт молекулярной биологии. По сути дела, именно в 1957–1958 годах наметился перелом в отношениях политической власти страны к генетике и биологии после десятилетнего их разгрома Т. Д. Лысенко и его последователями, кото-

рым явно не по плечу было решение неожиданно возникших сложных радиобиологических проблем.

Тем временем в Ленинград в 1953 году из филиала Института физиологии им. И. П. Павлова АН СССР в Колтушах вернулся на родную кафедру генетики и селекции Ленинградского государственного университета (ЛГУ) профессор М. Е. Лобашев, изгнанный оттуда после известной сессии ВАСХНИЛ 1948 года. Он вновь возглавил кафедру в 1957 году, энергично внедряя в учебный процесс самые современные представления о природе наследственности. Эмоционально горячие лекции Лобашева студенты слушали зачарованно, часто забывая записывать излагаемый материал. Профессор был строг, суров и требователен к экспериментальным работам студентов, с большей охотой обсуждая на семинарах их конкретные результаты и скучая над их обзорными сообщениями. Словно предчувствуя скорое падение лысенковских бастионов в биологической науке, он издал в 1963 году первый советский послевоенный учебник по генетике, в котором в логической строгости преподносится эта красивая стройная наука. Неподалеку от ЛГУ, на стрелке Васильевского острова, в лаборатории биополимеров Института высокомолекулярных соединений АН СССР (ИВС) профессора С. Е. Бреслера тоже происходили заметные изменения в научной жизни: после XX съезда КПСС оживились контакты с мировой наукой, и в 1957 году на Международном симпозиуме по макромолекулярной химии в Праге Бреслер встретился со многими коллегами с Запада, познакомился, в частности, с профессором П. Доти, молекулярным биологом из США. В 1958 году он выступил на дискуссиях Фарадеевского общества в Лондоне, именно там произошло его сближение с Френсисом Криком. И, наконец, в 1960 году находился в течение трех месяцев в научной командировке в США по приглашению нобелевского лауреата Ф. Липмана, где в наиболее успешно работавших биологических лабораториях ознакомился с методиками новой научной дисциплины – молекулярной биологии.

По возвращении в Ленинград Бреслер объявил сотрудникам своей лаборатории, что отныне в ней будут проводиться исследования исключительно в области молекулярной биологии – совершенно незнакомой для многих его сотрудников области, повергнув их в состояние шока. Однако Семен Ефимович начал еженедельно читать своим сотрудникам курс лекций по молекулярной биологии, и шок сменился возбуждением от предстоящего вхождения в мир молекулярной биологии. В 1963 году вышла в свет книга Бреслера «Введение в молекулярную биологию», ставшая первым в СССР учебником в этой области. По сути дела, для

советской научной общественности эта книга играла такую же роль, как за два десятилетия до этого книга Э. Шредингера «Что такое жизнь с точки зрения физика?». «Введение...» было действительно написано с присущим автору мастерством, увлекательно и интересно.

Таким образом, благодаря лидерским качествам Лобашева и Бреслера в Ленинграде на Васильевском острове в соседних зданиях возникли манящие молодежь притягательные центры для еще необузданных пытливых умов. В лабораториях и на кафедрах этих лидеров естественный отбор довольно быстро очищал зерна от плевел, и к концу 50-х – началу 60-х годов там уже работали зрелые коллективы единомышленников. На кафедре генетики и селекции микроорганизмов ЛГУ это были Ю. А. Волчков, И. А. Захаров, С. Г. Инге-Вечтомов, Л. З. Кайданов, К. В. Квитко, В. В. Пономаренко, А. Ф. Смирнов, М. М. Тихомиров, Н. К. Янковский и другие ученики М. Е. Лобашева, нашедшие свой индивидуальный путь в науке. Созвездие имен бреслеровских учеников, заботливо выпестованных Учителем из молодых неограниченных талантов в известных в мировой молекулярной биологии и биофизике ученых, составили Э. Н. Казбеков, Е. М. Саминский, М. И. Мосевичкий, В. Н. Рыбчин, Д. А. Перумов, С. В. Кириллов, В. Н. Фомичев, В. А. Ланцов, В. Л. Калинин, Л. М. Фирсов, А. Л. Тимковский, Л. А. Носкин.

Этими выдающимися учеными, С. Е. Бреслером и М. Е. Лобашевым, были сформулированы базовые принципы РБО. В итоге в 1965 году в отделе было официально положено начало биологическим исследованиям. В подготовке кадров для научных направлений нового отдела вместе с дирекцией ФТИ (Б. П. Константинов, Д. М. Каминкер) активное участие принимали кафедра генетики и селекции микроорганизмов биолого-почвенного факультета ЛГУ (М. Е. Лобашев), кафедра физиологии Военно-медицинской академии (А. С. Мозжухин) и кафедра физики изотопов Ленинградского политехнического института (ЛПИ) (С. Е. Бреслер). Менее чем за два года в составе РБО было организовано шесть научных лабораторий и две группы, в которых работало около 100 человек.

Можно выделить следующие этапы работы по созданию РБО:

- 1954 год – разработка технического задания на проектирование корпуса РБО;
- 1955–1958 годы – выбор площадки под строительство и проектирование корпуса 50;
- 22.08.1958 года – Постановлением ЦК КПСС и Совета Министров СССР «О работах в области биологии и радиобиологии, связанных с проблемами атомной техники» создаются Институт медицинской

радиологии АМН СССР в Обнинске, РБО в Институте атомной энергии (ИАЭ) и осуществляется переход от проектирования к строительству РБО в филиале ФТИ;

- 1963 год – завершение работ по строительству корпуса РБО и создание в ФТИ группы радиобиологии (руководитель Л. Н. Постников), включая В. Н. Фомичева, С. В. Кириллова, Л. Е. Драбкину;

- 25.12.1964 года – Постановлением Президиума АН СССР «О развитии в АН СССР научно-исследовательских работ в области генетики» в Москве создается Институт общей генетики АН СССР и девять лабораторий генетического профиля в существующих институтах АН СССР, в т. ч. и первая лаборатория радиационной генетики в составе РБО ФТИ, руководителем которой назначается И. А. Захаров;

- 06.07.1965 года – постановлением бюро Отделения биохимии, биофизики и химии физиологически активных соединений АН СССР роль научно-исследовательского центра страны по проблемам радиобиологии отведена РБО ФТИ. Бюро предлагает Президиуму АН СССР утвердить структуру РБО в составе пяти лабораторий, а финотдел АН СССР выделяет для РБО 50 вакансий в 1965 году и 100 вакансий в 1966 году;

- декабрь 1965 года – корпус РБО оснащен оборудованием и сдан в эксплуатацию;

- 24.02.1967 года – структура и направления научных исследований РБО утверждены Постановлением Президиума АН СССР, а на А. Г. Свердлова были возложены обязанности заведующего РБО. За два года в составе РБО созданы:

- Лаборатория радиационной генетики (зав. И. А. Захаров). Задачи: радиационная генетика животных (изучение генетических эффектов разного вида излучений), генетика микроорганизмов (изучение структуры и функции ядерного и цитоплазматического аппарата клетки);

- Лаборатория общей радиобиологии (зав. А. Г. Свердлов). Задачи: изучение действия различных видов излучения на организмы животных, поиски соединений, защищающих от действия излучения;

- Лаборатория молекулярной биологии (зав. С. Е. Бреслер). Задачи: изучение лучевого, а также химического мутагенеза на выделенной ДНК и на клеточном уровне;

- Лаборатория органического синтеза (зав. С. А. Грачев). Задачи: изыскание и синтез радиопротекторов и изучение механизма их действия;

- Лаборатория радиационной цитологии (зав. О. В. Малиновский). Задачи: изучение пострадиационного восстановления клетки;

– группа обеспечения экспериментов на реакторе ВВР-М (Л. Н. Постников);

- 1971 год – преобразование филиала ФТИ в Ленинградский институт ядерной физики АН СССР (ЛИЯФ), назначение С. Е. Бреслера председателем ученого совета РБО;

- 1977 год – С. Е. Бреслер становится руководителем РБО, который с тех пор стал называться ОМРБ;

- к середине 1970-х годов удельный вес работ по молекулярной биологии, биофизике и генетике существенно превысил радиобиологическое направление, что отразилось в новой структуре: в 1977 году РБО преобразован в ОМРБ ЛИЯФ, а с 1992 года – в ОМРБ ПИЯФ. Такой же путь прошел и РБО ИАЭ, отпочковавшись в 1978 году в Институт молекулярной генетики АН СССР;

- 2011 год – ПИЯФ в составе НИЦ «Курчатовский институт».

Директора РБО–ОМРБ



А. Г. Свердлов, д. м. н.
(1965–1977)



С. Е. Бреслер, д. х. н.
(1977–1983)



В. Н. Фомичев, к. ф.-м. н.
(1983–1998)



В. Л. Калинин, д. б. н.
(1998–2003)



В. Г. Королев, д. б. н.
(2003–2015)



А. Л. Коневга, к. ф.-м. н.
(2015 – настоящее время)

В 1966 году на кафедре физики изотопов Бреслер создал новую специальность «биофизика (молекулярная биология)», где стали готовить кадры, пополнявшие РБО филиала ФТИ (лаборатория биополимеров), Институт цитологии АН СССР и другие биологические коллективы Ленинграда. В 1969 году после кончины Б. П. Константинова кафедру физики изотопов в ЛПИ возглавил С. Е. Бреслер, а год спустя лаборатория биополимеров из ИВС возвращается в ФТИ.

К руководству всеми биологическими исследованиями в ЛИЯФ Бреслер переходил не спеша, возглавив ученый совет РБО в 1971 году с самого начала отдельного от ФТИ существования ЛИЯФ. В 1977 году директор Института О. И. Сумбаев предложил Семену Ефимовичу возглавить РБО, что было принято им после некоторых колебаний. К этому времени в отделе сложилась совсем иная ситуация – многие ученики Бреслера превратились в самостоятельных исследователей, большинство из которых и сегодня возглавляют лаборатории бывшего РБО, а ныне ОМРБ. Многие из них продолжили славную физтеховскую традицию преподавания на физико-механическом факультете Политехнического института.

С течением времени расширялись контакты РБО и позже ОМРБ ПИЯФ с физико-механическим факультетом. В конце 1990-х годов по инициативе руководителя ОМРБ В. Н. Фомичева и заведующего кафедрой экспериментальной физики В. Ф. Мастерова при Политехе была организована научно-образовательная структура ПИЯФ «Биофизика» и создана новая специальность «структурная биология» под руководством энергичного молекулярного генетика В. А. Ланцова, где работали и преподавали сотрудники ОМРБ ПИЯФ – пять профессоров и десять доцентов.

Лидерские качества Лобашева и Бреслера, заложенные природой, притягательность их личностей для окружения должны были проявляться с самых ранних этапов их творческого пути. Однако эти начальные этапы слабо и фрагментарно освещены в мемуарах их коллег-современников и учеников. Попробуем восполнить эти пробелы.

Г. А. Багян

Часть 1

Кануны и Учителя

Семен Ефимович Бреслер

Г. А. Багиян

Биографическая справка



(28.07.1911 – 21.05.1983)

Семен Ефимович Бреслер родился 28 июля 1911 года. Семья Бреслеров постоянно жила в Петербурге. Отец учился в Горном институте и после завершения учебы работал инженером на ленинградских предприятиях. Начальное образование Бреслер получил в школе с преподаванием всех предметов на немецком языке, кроме русского языка и литературы (Петришуле*). В 1926 году пятнадцатилетний Семен успешно сдал вступительные экзамены одновременно в Политехнический и Медицинский институты, но выбрал дальнейшую учебу на физико-механическом факультете Политехнического института.

* Петришуле (St. Petrischule) – первая школа в Петербурге, основанная в 1709 году при лютеранской церкви Петра и Павла на Невском проспекте, 22/24. В разное время в ней преподавали механик Н. Д. Брашман, историк Ф. Лоренц, физики И. Бекман, Э. Х. Ленц и др. Выпускниками школы были П. П. Вяземский, А. И. Михайловский-Данилевский, К. И. Росси, Н. Л. Бенуа, М. П. Мусоргский, К. А. Раухфус. Перед революцией школа стала крупнейшим средним учебным заведением России – здесь училось более 1 600 детей. Школа давала разностороннее образование и славилась преподаванием иностранных языков. Здесь в 1860-х годах читали лекции профессора Петербургского университета Н. Н. Бекетов, Н. И. Костомаров, Д. И. Менделеев, И. М. Сеченов и др. С началом Первой мировой войны все учебные предметы стали вестись на русском языке. В настоящее время в школе обучается 500 учеников, работает около 60 учителей, углубленно изучается немецкий язык.



Выпуск группы школы Петришуле.
В третьем ряду шестой справа: Семен Бреслер

На последнем, четвертом курсе института Бреслера зачислили на должность научного сотрудника второго разряда в лабораторию поверхностных явлений Института физических и химических исследований Физико-технического комбината (так называлась структура, в которую входили в конце 20-х годов три института Наркомата тяжелой промышленности: ФТИ, Институт физических и химических исследований и Ленинградский электрофизический институт). По окончании учебы в ЛПИ в 1930 году Семен Ефимович был принят инженером на работу в молекулярный отдел этого комбината, возглавлявшийся Д. Л. Талмудом, где погрузился в исследование поверхностных явлений. В 1934 году в связи с выделением отдела в административно самостоятельный Институт физических и химических исследований Бреслер стал заведовать в нем лабораторией. Ежовско-бериевские кадровые чистки в конце 1930-х годов привели в итоге к ликвидации Института физических и химических исследований, и Наркомат химической промышленности откомандировал Семена Ефимовича в Москву, в Физико-химический институт им. Л. Я. Карпова. Однако уже через три месяца из-за отсутствия жилья в Москве он вернулся в Ленинград и устроился ненадолго в Физико-агрономический институт и через год вновь оказался в альма-матер (ФТИ) в должности старшего научного сотрудника. С мая 1940 года он возглавлял там лабораторию физико-химических проблем.



Выпуск 1930 года. Преподаватели и студенты.

Слева направо, сверху вниз: О. И. Лейпунский, И. Боровский, Я. И. Френкель, А. Ф. Иоффе, И. Зельманов, неизвестный; А. Ковальский, С. Бреслер, Ю. Рябинин, В. Иоффе, Б. Лазарев, И. Факидов, Г. Колесников, А. Беляев, Б. Кизельбаш, (?) Меттер, В. Сасоров, М. Ген, неизвестные

В конце августа 1941 года лаборатория Семена Ефимовича была эвакуирована в Казань, где занималась важными оборонными программами. Уезжая туда, Бреслер оставил на подоконнике квартиры готовую рукопись о низких температурах «-273», считая, что сейчас она не нужна. Вернувшись в 1945 году, он нашел ее на том же месте, но счел устаревшей и публиковать не стал. В феврале 1945 года – долгожданное возвращение в родной Физтех, к мирной физике полимеров.

В конце июня 1947 года Бреслер отправился в командировку в Швецию, в Упсальский институт Сведберга, где по заказу СССР шведы изготавливали высокоскоростную ультрацентрифугу, и его задача состояла в том, чтобы научиться работать на этом уникальном оборудовании – запускать, юстировать, регулировать разные узлы машины. Знакомство с отчетом Семена Ефимовича по этой командировке поражает тем, как

обстоятельно он вникал не только в детали работы ультрацентрифуги, но и в другие приборные разработки передовой на то время в мире фирмы «ЛКБ», включавшие разработку электрофорезёров, спектрофотометров, бета-спектрографов, хроматографической техники. Более того, на базе Упсальского института он выполнил небольшую исследовательскую работу, спланированную так, чтобы можно было максимально использовать имеющиеся под рукой в изобилии оборудование и приборы фирмы «ЛКБ» с целью проверки надежности получаемых на них данных. За три месяца пребывания в Швеции Бреслер подробно ознакомился с научно-техническими разработками в профильных институтах и заводах «ЛКБ» в Стокгольме и Гетеборге. Проявленная им неутомимость в знакомстве с новыми методами и техникой химического и биологического эксперимента может и сегодня служить достойным примером для подражания.

Однако пир души продолжался недолго. Дело в том, что в декабре 1950 года в разгар кампании по «борьбе с космополитизмом» А. Ф. Иоффе был снят с поста директора ФТИ, а 3 марта 1952 года новый директор института А. П. Комар вынес на обсуждение ученого совета вопрос «об ошибках освещения современной физики» в книге А. Ф. Иоффе «Основные представления современной физики». В защиту Иоффе тогда выступил ряд ученых ФТИ, включая Бреслера, и не прошло и месяца, как он со своими сотрудниками – С. Я. Френкелем, М. В. Гликиной, В. П. Кушнером, Г. В. Самсоновым, А. Т. Суходоловой – был переведен в Институт высокомолекулярных соединений (ИВС) под предлогом «несоответствия тематики лаборатории направлению работ ФТИ». Физико-химическая группа Бреслера в ИВС в 1957 году была переведена в статус лаборатории, а в 1963 году ее переименовали в лабораторию биополимеров. И, наконец, в 1970 году лаборатория биополимеров во главе с С. Е. Бреслером перешла в ФТИ. Через год ее утвердили в составе ЛИЯФ, во вновь организованном институте АН СССР.

Научное становление в тандеме с Д. Л. Талмудом

Изучение поверхностных явлений

Научное становление Семена Ефимовича (1929–1940 годы) было связано с исследованиями поверхностных явлений, проведенными в творческом тандеме с Д. Л. Талмудом. Эти коллеги и друзья входили тогда в «мощную полимерную группу» ФТИ в составе П. П. Кобеко, С. Н. Журкова, Е. В. Кувшинского, Д. Л. Талмуда, С. Е. Бреслера, Ю. С. Лазуркина, М. И. Корнфельда, В. Р. Регеля, А. П. Александрова

и др. Постоянное внимание к их работам проявлял выдающийся физик-теоретик Я. И. Френкель. В то время это была, пожалуй, самая сильная группа в мире по исследованию физики полимеров. Она занималась изучением структуры и физико-химических свойств синтетических полимеров с целью создания на их базе, в частности, электрически высокопрочных конденсаторов, морозостойких резин на основе натрий-дивинилового каучука, целенаправленного подхода к выбору пластификаторов для различных композитных пластмасс.

В двух вышедших сборниках «Бреслеровских чтений» 2002 и 2007 годов лишь пунктирно обозначен этот этап работы Бреслера, что вполне объяснимо, т. к. его ученики обычно пишут о своем сотрудничестве с Учителем, приходившимся на те годы, когда он уже был признанным в стране и в мире авторитетом в молекулярной биологии.

Не меньший интерес представляет то, каким конкретно образом природная одаренность Бреслера проявлялась во время его научного становления, возмужания, т. е. в пору исследования им поверхностных явлений. Этап этот отражен в монографии Д. Л. Талмуда и С. Е. Бреслера «Поверхностные явления» (1934), являвшейся, по сути, обзором экспериментальных работ авторов. В книге изложены результаты исследований процессов, связанных со свойствами молекул, находящихся на границах раздела двух фаз. Остановимся на наиболее важных результатах этих исследований. Прежде всего были изучены механические и физико-химические свойства мономолекулярных адсорбционных слоев длинноцепочечных органических кислот, спиртов, альдегидов (пальмитиновой, олеиновой кислот, цетилового спирта и альдегида). Результаты измерений показали, что прочность адсорбционных слоев исследованных соединений обнаруживает максимум в области, предшествующей насыщению, при этом прочность нерастворимых твердых адсорбционных слоев, например, пальмитиновой кислоты, достигнув максимума, спадает до некоторой постоянной величины, в случае же нерастворимых жидких адсорбционных слоев, например, олеиновой кислоты, после достижения максимума падает до нуля в насыщенном слое. Кроме того, сравнение прочности адсорбционных слоев гомологов предельных жирных кислот проявляет сильную зависимость максимальной прочности ненасыщенного слоя от длины цепи жирной кислоты: с уменьшением длины цепи прочность быстро падает.

Существенным фактором, определяющим поведение мономолекулярных пленок из полярных молекул на воде, является гидратация их полярных групп. О механизме гидратации в то время было известно весьма мало. Согласно авторам, гидратационную воду следует рассматривать не

в виде оболочек около отдельных погруженных в воду диполей, а в виде ориентированного на толщу во много молекулярных размеров слоя жидкости, обладающего некоторыми квазитвердыми свойствами.

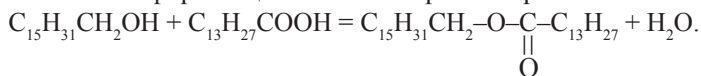
Одним из подходов к проблеме гидратации является исследование поведения адсорбционного слоя в зависимости от дегидратации его различными агентами: можно, например, растворить в воде, служащей подкладкой, какие-либо сильно гидратирующиеся вещества. Опыты, поставленные авторами, заключались в исследовании поведения мономолекулярных пленок нерастворимых поверхностно-активных веществ на водных растворах электролитов и на растворах глюкозы. Метод исследования заключался в снятии кривых зависимости ($\pi - \sigma$) плоского давления пленки от площади, занимаемой одной молекулой (т. е. разности между поверхностным натяжением чистой жидкости и жидкости с поверхностным слоем). Прежде всего эффект, наблюдавшийся в опытах с использованием водных растворов нейтральных солей, свидетельствовал об отсутствии специфического влияния кислотности или щелочности подкладки. Во-вторых, оказываемое весьма сильное влияние глюкозы на повышения плоского давления указывает на то, что изучаемое явление не связано обязательно с диссоциацией растворенного вещества на ионы, т. е. с каким-либо эффектом зарядки поверхностного слоя.

Авторы предположили, что наблюдаемый эффект является следствием дегидратации полярных групп молекул поверхностного слоя, и для доказательства этого исследовали влияние на плоское давление введения в подкладку электролитов в лиотропных рядах катионов и анионов. В экспериментах с цетиловым спиртом и олеиновой кислотой по величине производимого эффекта на зависимости ($\pi - \sigma$) катионы можно расположить в ряд $Li > K > Na$, а анионы – в ряд $цитрат > SO_4 > Cl > Br$. Оба эти ряда и являются известными лиотропными рядами, в которых ионы расположены в порядке уменьшения производимого дегидратирующего ими действия. Влияние растворенных в подкладке веществ сводится к тому, что состояние пленки становится ближе к газовому. Молекулы поверхностно-активных веществ состоят из двух различных частей: гидрофильной полярной группы и нерастворимой в воде неполярной цепи. Полярные группы втягиваются в подкладку и ориентированы параллельно друг другу и нормально к поверхности раздела. Межмолекулярные силы складываются из взаимодействия полярных групп и неполярных цепей. Последние, видимо, являются аддитивными поляризационными силами Лондона – это силы притяжения. Взаимодействие же параллельно ориентированных диполей дает силы отталкивания. Расталкивание диполей характерно как раз

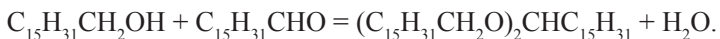
для состояния молекул в адсорбционном слое. Гидратация полярных групп, несомненно, уменьшает их расталкивание. Дегидратация полярных групп растворенными в водной подкладке электролитами нарушает ориентацию молекул воды в поверхностном слое и тем самым освобождает в этом слое силы расталкивания между одноименно заряженными (или полярными) функциональными группами органических молекул, что и приводит в итоге к повышению плоского давления. Таким образом, это явление, бывшее совершенно непонятным, служит доказательством верности введенной авторами гипотезы об электростатическом взаимодействии полярных групп в адсорбционном слое.

В двухмерных образованиях, представляющих собой адсорбционные слои, могут протекать химические реакции. Однако в литературе в огромной массе опытных материалов отсутствовали какие бы то ни было данные о химических реакциях, идущих в двухмерном пространстве, т. е. на границе раздела «вода – воздух». Полярные молекулы, образующие адсорбционный слой, находятся в очень специфических условиях, связанных с ориентацией молекул и с весьма интенсивным их взаимодействием с подкладкой, сводящимся к гидратации. Вследствие этого в кинетике и в равновесиях, к которым приводят эти двухмерные реакции, могут проявиться совершенно новые особенности. Одно из влияний поверхности нетрудно предугадать: в условиях мономолекулярного слоя должен увеличиваться выход сильно гидратируемых молекул. При этом смещение равновесия по сравнению с объемным может быть весьма значительным, т. к. теплота гидратации полярных групп сходна по величине с теплотой реакции. С этой точки зрения особый интерес представляют реакции, при которых и реагирующие вещества, и продукты реакции остаются на двухмерной границе раздела фаз в мономолекулярном слое.

В экспериментах использовалась общепринятая методика в химической кинетике газовых реакций, заключающаяся в измерении падения давления. На поверхность воды на так называемых весах Ленгмюра наносились из растворов в пентане оба реагирующих вещества в стехиометрических отношениях, затем регистрировалось суммарное плоское давление, производимое смесью на весы, которое непрерывно падает, пока не установится равновесие. Были изучены две реакции между нерастворимыми поверхностно-активными веществами, находившимися в двухмерном состоянии в виде мономолекулярного слоя на границе раздела «вода – воздух» при комнатной температуре. Первой была реакция образования сложного эфира из цетилового спирта и миристиновой кислоты:



Другой была реакция цетилового спирта и пальмитинового альдегида:



В обоих случаях и реагирующие вещества, и продукты реакции нерастворимы в воде. Из полученных зависимостей падения плоского давления смеси во времени при различных начальных давлениях (поверхностных концентрациях) отчетливо выступает зависимость скорости реакции от начального давления: чем выше начальное давление смеси, тем круче падает плоское давление и тем больше скорость реакции. Падение давления особенно значительно во второй из изученных реакций и достигает 50 % от начальной величины. До реакции площадь на одну молекулу при предельном сжатии пленки составляла 20 \AA^2 . После реакции эта площадь составляла всего 15 \AA^2 , а в некоторых случаях и меньше, что с очевидностью указывает на уменьшение количества молекул на поверхности. Таким образом, факт существования двумерных реакций надо считать твердо установленным.

По материалам этих исследований С. Е. Бреслеру в 1936 году была присвоена степень кандидата наук без защиты, а в 1940 году он защитил диссертацию «Молекулярные силы в поверхностных слоях» на соискание ученой степени доктора химических наук. На этой базе пора было переходить к исследованию природы внутримолекулярных сил, действующих в макромолекулах и определяющих их пространственные структуры.

*«Конфигурационная статистика цепных молекул
с ограниченной гибкостью»*

В 1939 году в ЖЭТФ* вышла статья С. Е. Бреслера и Я. И. Френкеля «Конфигурационная статистика цепных молекул с ограниченной гибкостью», где впервые было рассмотрено несвободное вращение звеньев в полимерных цепях. К тому времени было известно, что в простых парафиновых (полиметиленовых) цепях расстояние между соседними CH_2 -группами составляет $3,8 \text{ \AA}$ при *транс*-конфигурации цепи и всего $2,52 \text{ \AA}$ при *цис*-кофигурации, и оно гораздо меньше, чем размер (Ван-дер-ваальсов диаметр) полиметиленовой цепочки (4 \AA).

Авторы предположили, что в цепной молекуле должно существовать и доминировать взаимное расталкивание атомов углерода (и водорода), не связанных друг с другом ковалентной связью, т. е. через одно

* ЖЭТФ. 1939. № 9. С. 1094.

звено цепи. Это рассуждение применимо и к гораздо более сложным молекулам. Из представлений о несвободе вращения в полимерах авторы далее ввели понятие потенциального барьера, ограничивающего свободу вращения. Энергия в плоской *транс*-цепочке считалась минимальной, а в *цис*-цепочке – максимальной. Так как высота барьера (разность энергий *цис*- и *транс*-цепочек) на основании спектроскопических данных была оценена в 3 600 кал/моль, т. е. примерно 6 RT, то тепловое движение подобной цепи должно быть очень далеким от свободного вращения при обычной температуре и иметь характер крутильных колебаний около положения равновесия (около *транс*-конфигурации) внутри потенциальной ямы, ограничиваемой барьером. Наличие барьеров, ограничивающих свободу вращения, приводит к тому, что цепь, оставаясь гауссовой, как будто бы состоит из меньшего числа сегментов (статистических звеньев), содержащих более длинные последовательности химических звеньев. Чем жестче цепь, чем труднее в ней реализуется вращение, тем в большее число раз статистическое звено отличается от химического. В каучуках отношение статистического звена к химическому составляет несколько единиц, в виниловых полимерах оно достигает 5–10, в производных целлюлозы и полипептидах – нескольких десятков, в нуклеиновых кислотах – нескольких сотен. Это отражает реальные различия полимеров, состоящих из гибких (каучуки) или жестких (ДНК, белки) макромолекул. Кроме рассмотренного взаимного расталкивания звеньев вдоль цепи существуют и другие причины, вызывающие жесткость, – наличие объемистых групп, например циклов в цепи, или сильное притяжение между последовательными звеньями с возникновением между ними водородных связей, как это имеет место в полипептидах и нуклеиновых кислотах. Растворитель при этом конкурирует с внутримолекулярными водородными связями между звеньями цепи. Меняя природу растворителя и температуру, можно сильно изменить отношение статистического звена к химическому.

Проблема вторичной и третичной структуры белка

В 1944 году в журнале «Доклады АН СССР»* С. Е. Бреслер в соавторстве с Д. Л. Талмудом опубликовал две теоретические статьи о строении глобулярных белков, полипептидная цепь которых сворачивается в компактную глобулу. В такие структуры складываются почти все известные на сегодня ферменты – этим они резко отличаются от таких фибриллярных белков, как мышечные белки каротины и коллаген, имеющие

* Доклады АН СССР. 1944. № 43. С. 326–330, 367–369.

вытянутые полипептидные цепи в виде нитей и слоев. Авторы сформулировали общее положение о том, что структура белковой глобулы есть результат равновесия трех типов молекулярных сил: сил водородной связи между CO–NH-группами полипептидной цепи, которая представлялась свернутой в спираль, сил Ван-дер-Ваальса между боковыми углеводородными группами и сил электростатического отталкивания между зарядами на поверхности белковой частицы. При этом внутренние области глобулы заполнены гидрофобными сегментами, а внешние – гидрофильными. Идеи, лежащие в основе этой теории, полностью подтвердились в дальнейшем, хотя конкретные формы вторичной и третичной структур были в то время неизвестны – сейчас же они надежно изучены.

Оценка энергии всех трех типов сил, сделанная Бреслером в 1949 году*, должна быть исправлена на основании современных данных. Энергия водородных связей была измерена в лаборатории Бреслера Е. М. Саминским для нескольких белков и составила 1 400 кал/моль звеньев спирализованной цепи. Для белка с молекулярным весом 17 000, т. е. состоящего из 150 звеньев (например, лактальбумина или миоглобина) при степени спирализации 60 %, энергия внутримолекулярных водородных связей $E_1 = 1\,400 \times 0,6 \times 150 = 130\,000$ кал/моль. Свободная энергия сцепления боковых углеводородных групп определяется в основном изменением энтропии воды при десольватации и составляет по порядку величины для той же молекулы $E_2 = 50\,000$ кал/моль. Наконец, энергия электростатического отталкивания зарядов может быть вычислена на основании закона Кулона $E_3 = S\beta e^2 \alpha^{3/2} / 2D$, где S – поверхность глобулярной частицы; e – заряд электрона; α – число ионизированных групп на единицу поверхности белка; β – координационное число ионов на поверхности глобулы, т. е. число ближайших соседей. Можно принять $\beta = 6$. В этой формуле не учтено экранирование зарядов диффузной атмосферой Дебая – Хюккеля, т. е. эта формула справедлива при ионных силах $I \leq 0,01$. Полагая общее число зарядов на одной белковой частице равным 20–30 (эта цифра справедлива, если рН удален от изоточки на 2–3 единицы), находим порядок величины электростатической энергии взаимодействия зарядов: $E_3 = 50\,000$ кал/моль. Свообразие белка в том, что вклад всех трех типов молекулярных сил – одного порядка величины, хотя энергия водородных связей и превалирует. Благодаря этому в белке и осуществляется весьма тонкое равновесие сил и наблюдаются структурные изменения при воздействии на каждый тип сил в отдельности.

* Биохимия. 1949. № 14. С. 180–189.

В последующих исследованиях Бреслер с сотрудниками получил убедительные доказательства глобулярной структуры белковой молекулы, изучая структуру белка в условиях нарушения равновесия трех видов взаимодействий: электростатических, Ван-дер-ваальсовых и водородных. С этой целью авторы использовали перевод белка в органический растворитель, варьирование pH, изменение солевого состава среды, что позволило уточнить характер взаимодействий в белковой глобуле.

Военное лихолетье в казанской эвакуации

Отчет за 1941 год лаборатории № 6
Ленинградского физико-технического института
(зав. лаб. проф. С. Е. Бреслер)

В довоенные месяцы 1941 года было начато исследование процессов полимеризации углеводородов этиленового ряда при низких температурах. Конечной целью этого исследования было получение новых видов синтетического каучука типа бутилкаучука, отличающихся малым количеством двойных связей, а вследствие этого и исключительной стабильностью. После подготовительной работы, заключающейся в разработке методики получения исходного вещества – изобутилена и катализатора – трехфтористого бора, а также методики проведения полимеризации при низких температурах (вплоть до -120°C), было приступлено к опытам. Наряду с исследованием полимеризации изобутилена фтористым бором был изучен тот же процесс для бутадиена и изопрена, а также их смесей с изобутиленом. Выяснилось, что полимеризация диенов идет, хотя и при несколько более высоких температурах ($-80\dots-70^{\circ}\text{C}$). При этом получают нерастворимые пространственные полимеры с практически непригодными механическими свойствами.

В самые первые дни войны я познакомился со статьей в журнале Nature о борьбе с анаэробными инфекциями – опаснейшими осложнениями при ранениях – и предложил заняться этой весьма важной темой научному сотруднику лаборатории М. В. Гликиной. К концу 1941 года были подобраны культуры, подавляющие рост возбудителей газовой гангрены, и накоплено достаточно препарата для первых исследований. К марту 1942 года их результаты показали перспективность препарата, и городскими властями было решено немедленно наладить выпуск препарата и использовать его в деле на базе эвакуогоспиталя, располагавшегося в Александро-Невской лавре. Всего за три года в эвакуогоспитале лечение препаратом прошли более 500 раненых с тяжелой и средней формой анаэробной инфекции.

25 августа 1941 года лаборатория отправилась в эвакуацию в Казань, где ее состав и тематика были значительно изменены, причем ей была поручена разработка противотанковых средств. В качестве таковых были изучены:

1) огневые завесы из «горящей земли»;

2) дымовые завесы, воздействующие непосредственно на двигатель танка и заставляющие егоглохнуть.

Огневые завесы создавались таким образом, что полоса земли и дерна пропитывалась нефтью и мазутом и затем поджигалась специальными составами, после чего горела в течение 1-2 часов. Для успешного создания подобных завес оказалось необходимым предварительно особым образом обработать почву – сделать ее гидрофобной, не смачиваемой водой. Специальные опыты показали, что можно гидрофобизировать практически любую почву, обрабатывая ее вполне разбавленными растворами солей железа, алюмината железа или меди, а затем раствором мылонафта или камфольного мыла. Подобная почва обладает рядом замечательных свойств, позволяющих применять ее для всевозможных строительных и изоляционных целей. Предложенные лабораторией применения гидрофобной земли прорабатываются как в Ленинграде, так и в Казани.

Второй метод борьбы с танками, исследованный нашей лабораторией в тесном контакте с лабораторией П. П. Кобеко, заключался в создании дымовой завесы из какого-либо полупроводника так, чтобы, оседая на поверхность свечи в двигателе, частицы дыма приводили бы к тушению свечи и тем выводили бы из строя зажигание двигателя.

Были поставлены многочисленные и разнообразные опыты в этом направлении, но работа была снова прервана вследствие эвакуации института в Казань.

Обе упомянутые здесь темы успешно продолжают развиваться разработкой в ленинградской группе Физико-технического института под руководством П. П. Кобеко и дают, по-видимому, положительные результаты. С переездом в Казань с сентября 1941 года перед лабораторией была поставлена в качестве основной задачи разработка противотанковых мин и гранат. В качестве таковых были сконструированы и исследованы:

1. Оригинальная противотанковая ручная граната ударного действия, конструкция А. Дунаева. Она прошла предварительные испытания, подтвердившие ее целесообразность.

2. Противотанковая мина с магнитным взрывателем. Была осуществлена в нескольких вариантах и прошла предварительные испытания в полевых условиях.

3. Принципиально новая «мина давления», или мина пневматического действия. Ее взрыватель основан на повышении давления в небольшом резервуаре вследствие прогиба мембраны под действием давления, создаваемого танком в почве. Мина эта была сконструирована, изготовлена и прошла предварительные испытания как в лабораторных, так и в полевых условиях вполне успешно. Кроме этих основных тем лабораторией с начала войны выполнялся целый ряд более мелких тем и sporadических заданий, поступавших из военных организаций. Так, в Ленинграде были выполнены работы по методам изоляции электрических противопехотных заграждений с помощью гидрофобной земли, а также изготовлены загустеватели для бутылочных горючих жидкостей.

В Казани проводилась работа по созданию гранаты против танков, защищенных сеткой; работа эта не закончена и будет продолжаться в будущем году.

Отчет С. Е. Бреслера о командировке в Швецию с 25.06 по 25.09.1947 года

Целью моей командировки было подробное ознакомление с работой ультрацентрифуги и другими современными физико-химическими методами изучения белковых веществ. Большую часть времени я провел в Упсале, в лучшем физико-химическом институте Швеции. Институт состоит из двух основных отделов. Первым, физико-химическим, руководит профессор Сведберг; вторым, биохимическим, – профессор Тизелгус. Заместителем Сведберга фактически является доцент Петерсон. Я начал работу с детального ознакомления с центрифугами. В течение первого месяца я научился самостоятельно работать на них, подробно разобрался в деталях монтажа, контроля и юстировки, научился самостоятельно собирать и регулировать машину. Одновременно мне приходилось бывать в Стокгольме у фирмы «ЛКБ Продуктер», которая начала изготавливать ультрацентрифуги под непосредственным руководством Упсальского института. Фирма «ЛКБ» является акционерным обществом, специально созданным тремя крупными шведскими химическими и фармацевтическими компаниями (жировая и мыловаренная промышленность, мыловаренная и фармацевтическая, пивоваренная промышленность и антибиотики) для выпуска новых экспериментальных аппаратов. Фирма «ЛКБ» имеет несколько мелких механических и электромонтажных мастерских и проектное бюро, но выполняет и довольно крупные работы, например строят сейчас для Сведберга циклотрон диаметром 90 дюймов (вес магнита 550 тонн).

Я познакомился с технологией изготовления центрифуг в Стокгольме. «ЛКБ» строит впервые три центрифуги, все они одинаковые и имеют по сравнению с uppsальскими ряд существенных изменений и усовершенствований. Одна из них была недавно смонтирована и работает в Гетеборге, в чалмерсовском политехническом институте (отделение текстильной технологии), вторая делается для нас и третья – для Копенгагена. Это первые ультрацентрифуги, которые производятся на экспорт. За два года, в течение которых длится заказ, техника ультрацентрифуг претерпела изменения, и наш первоначальный заказ не содержал нескольких довольно важных новых приспособлений, которые представляют огромную ценность для работы. Поэтому мы запросили Москву о возможности заказать несколько дополнительных деталей на сумму 2 180 крон.

Основным элементом ультрацентрифуги является ротор. В течение второго месяца моего пребывания в Упсале были готовы два ротора в мастерской «ЛКБ» вчерне, и они были привезены в Упсалу для окончательной доводки и балансировки. Балансировка ротора, работающего при 70 000 оборотах в минуту, является самой ответственной операцией производства и делается непосредственно научными работниками. Мне удалось принять большое личное участие в этой работе, и один из роторов я балансировал и испытывал фактически сам. Опыт этой работы я считаю очень важным, и он может иметь разнообразное применение в дальнейшем, я напишу об этом специальный отчет по возвращении в Союз. В течение первых двух месяцев пребывания в Упсале я по предложению руководителей института (в частности, Петерсона) начал небольшое самостоятельное исследование на ультрацентрифуге и других аппаратах и систематически проводил его все время командировки. В качестве темы я сознательно выбрал лишь небольшую деталь одной из сделанных и опубликованных нами работ по белкам. Это позволило мне войти в курс всех мелочей, как экспериментальных, так и теоретических (методов расчета результатов эксперимента), по ультрацентрифуге и другим новым методам работы в институте Сведберга.

Кроме масляной ультрацентрифуги и «равновесной» центрифуги с электрическим приводом на 18 000 оборотов в минуту я подробно ознакомился с измерением диффузии и с изучением белков и аминокислот методами электрофореза на аппарате Тизелюса – Свенсона и с адсорбционным анализом Тизелюса – Классона. Я имел возможность работать на всех этих аппаратах и воспользовался маленькой темой, которую я делал, чтобы ставить опыты на всех установках. Таким образом, я получил полное представление и вполне освоился с этими методика-

ми, учиться которым приезжают в Упсалу химики из всех стран мира. Со стороны руководства института я встречал неизменно хорошее отношение и готовность помочь мне научиться возможно большему числу новых вещей. Остановлюсь кратко на тематике самого Упсальского института.

В отделении Сведберга Петерсон ведет работу, связанную непосредственно с биологией и медициной. Систематическое изучение плазмы человека и животных как в случае нормальной крови, так и при различных патологических отклонениях и заболеваниях позволило ему значительно расширить знания о белках в крови. В настоящее время он начинает применять свои результаты для диагностики заболеваний, он работает совместно с доктором Грювалом из академической клиники в Упсале, который является одновременно и бактериологом, и патологоанатомом. Непосредственные младшие помощники (ассистенты) Сведберга, Чинель и Ромпи, связаны с промышленностью и работают в области технических полимеров (каучук, целлюлоза, пластмассы). Во время войны Сведберг со своими учениками ввели в Швеции синтетический каучук из хлоропрена типа неопрена.

Сейчас построена и работает промышленная установка по выработке неопрена (или как его здесь называют, сведопрена) на севере Швеции. Вся работа по технологической схеме хлоропренового каучука была проделана в институте вплоть до полужаводского масштаба. Сейчас опытная установка вынесена из института в отдельное заводское помещение на окраину Упсалы, работа по изучению деталей технического процесса ведется в промышленном химическом институте в Стокгольме, состоящем при той же фирме «ЛКБ». В Упсале делают лишь эксперименты самого общего характера по природе каучука. В настоящее время Чинель и его сотрудники работают над применением спектроскопии к полимерам, но, по сути дела, вся научная работа по каучуку в Швеции делается под руководством Сведберга и его учеников. Мне предоставили возможность познакомиться с работой по каучуку. В Упсале я осмотрел опытный завод, который занят сейчас доработкой главным образом аппаратуры, технологии, методами контроля и некоторыми побочными вопросами. Я увидел несколько новых оригинальных конструкций реакторов, например реактор для процесса получения моновинилацетилена по типу флотационной машины с очень большой производительностью, очень интересный аппарат для отгона хлоропрена, незаполимеризовавшегося после эмульсионной полимеризации, посмотрел получение губчатой резины из латекса и некоторые другие детали. Особенно хорошее впечатление производят методы анализа шведами для производственного контроля. Сложная смесь ацетилена,

моновинилацетилена, дивинилацетилена и ацетальдегида. Анализируется быстро и точно. Об этих важных для нас вещах я буду писать подробно позже.

Во главе опытного завода в Упсале находится инженер Филипсон. Во главе научно-исследовательского института «ЛКБ» в Стокгольме – ученик Сведберга и бывший работник Упсальского института доцент Брохульд. Интерес к русским работам в области каучука очень большой. Чинель, например, читает по-русски. В институте мне показали машину для исследования релаксационной упругости каучука, созданную членом-корреспондентом Академии наук Александровым. Здесь ее просто скопировали по его статьям и широко используют. В институте «ЛКБ» в Стокгольме мне показали во всех деталях химические анализы смесей ацетилена и его полимеров, а также кинетические исследования реакции образования моновинилацетилена под действием полухлористой меди, но данные об употребляемых сейчас катализаторах сообщили весьма скудные. В том же институте я вкратце осмотрел работы по химии жиров. Для нас представляют несомненный интерес некоторые методические работы, которые они проделывают (методы разделения жирных кислот адсорбционным анализом и ректификацией метиловых эфиров в вакууме, новые конструкции лабораторных ректификационных колонн, методы создания и поддержания постоянного потока газа для кинетических измерений).

Второй личный ассистент Сведберга Ромпи работает в области целлюлозы. И здесь организация работы такая же, как и по каучуку. В Упсале делается лишь чисто научная и весьма широко поставленная работа по исследованию молекулярного веса целлюлозы и изменениям молекулы при образовании эфира. Работа Ромпи по точному фракционированию целлюлозы очень важна, и о ней я получил самые детальные сведения. Упсальский институт очень тесно связан с целлюлозной промышленностью и живет в значительной мере на средства, получаемые от целлюлозных фирм (в частности, стоимость циклотрона по проекту в 2,5 млн крон оплачивается одной из целлюлозных фирм). Один из старших учеников Сведберга профессор Юландер, работавший много лет в Упсальском институте, сейчас во главе целлюлозных исследований одной из крупнейших фирм в Ерншельсвике на севере Швеции. Вследствие этого я имел возможность в течение третьего месяца пребывания в Швеции посетить лабораторию и завод в Ерншельсвике. Этот комбинат состоит из двух сульфидных мельниц, производительностью около 60 000 тонн каждая, и сульфатной, несколько более низкой производительности. Это один из центров химической промышленности Швеции. Не имея

угля и нефти, Швеция свою органическую технологию строит на древесине. Щелока после сульфитного процесса сбрасываются на спирт и далее до уксусной кислоты, затем производится ацетальдегид и путем альдольной конденсации – бутиловый спирт, а на их основе – различные эфиры, которые идут в промышленность как растворители. Имеется также производство ДДТ и очень интересный процесс получения жирных кислот из смолистых отстоев сульфатных щелоков. По их словам, количество жира в этой фракции порядка 50 %, и они производят несколько тысяч тонн жирных кислот для мыловарения, флотации и других нужд. Эти кислоты весьма дешевы, если не заниматься слишком детально их рафинированием. К сожалению, фирма не разрешила осмотреть химический комбинат, и пришлось ограничиться лишь осмотром сульфитного завода и целлюлозной лаборатории. Сульфитный завод производит целлюлозу высшего качества для экспорта в США и Англию, процессы я видел во всех подробностях и остановлюсь на них в детальном отчете. Целлюлозная лаборатория занимается деталями технологического процесса и методами контроля. Юландер рассказывал мне о своих опытах по вулканизации целлюлозы силиконами, но подобных работающих установок я у них не видел. Кроме Юландера я познакомился с главным химиком лаборатории Габриельсоном. Здесь я тоже встретил большой интерес и знания советских работ (школы академика Семенова, например работы Франк-Каменецкого).

Возвращаясь к структуре Упсальского института, я коснусь второго отдела, руководимого Тизелусом. Здесь работает несколько групп исследователей. Группа Свенсона занимается дальнейшим развитием метода электрофореза, в особенности для исследования крови. Здесь делают очень интересные и важные опыты по тонкому разделению плазмы (сыворотки) на отдельные компоненты, которых уже установлено около 10, по выделению антител в чистом виде и т. д. В связи с этой лабораторией в институте работает французский химик Дерьен, который развил до высокой степени совершенства простой метод высаливания белков солями или ацетоном и получает сейчас количественные результаты фракционирования плазмы в прекрасном согласии с данными электрофореза. Вторая группа Классона работает над адсорбционным анализом, имея конечной целью полный аминокислотный анализ белков. Третья группа Свенгарда – бактериологическая, занимается исследованием вирусов полиомиелита и гриппа. В этой работе, так же как и во всех звеньях исследований Упсальского института, поражает комплексное применение всех новейших физических и химических методов – ультрацентрифуга, электрофорез, электронный микроскоп, адсорбционный анализ как в варианте Тизелуса, так и в форме хро-

матографической адсорбции. Все эти орудия привлекаются одновременно и параллельно для решения каждой задачи. Наряду с ультрацентрифугой, равновесной центрифугой, диффузионным аппаратом я считаю очень важными и имеющими громадное будущее следующие новые приборы и установки: 1) электрофоретический аппарат Свенсона с двумя сортами кювет для анализа и препаративной работы; 2) аппарат для диффузионного анализа Тизелиуса – Классона с применением интерферометра; 3) препаративная центрифуга на 30 000 оборотов в минуту с пневматическим приводом. Она незаменима для бактериологической работы; 4) ультрафиолетовый спектрофотометр Бекмана (это замечательный новый прибор, применяемый здесь исключительно широко, точен и прост в обращении); 5) электронный микроскоп современного типа. Лучшим из всех, которые я здесь видел (а в каждом шведском физическом и химическом институте имеется такой прибор), является, бесспорно, микроскоп РСА – большая модель (американский). В нем автоматичность и простота работы таковы, что могут быть сравнимы с оптическим микроскопом.

В заключение следует остановиться на новых линиях работы Упсальского института, который сейчас только в стадии становления. Очевидно, личные интересы Сведберга лежат сейчас больше всего в области ядерной физики и ее применения. В институте, как я указывал выше, строится большой циклотрон с расчетной энергией тритонов до 75 мезавольт, кроме того, строится термодиффузионная колонна для разделения газовых смесей, с целью получения изотопов углерода, азота, строится также современный масс-спектрограф. Занимаются этой работой сотрудники Сведберга – Тирен и Войман. Последний является основным административным работником института и делает всю работу по размещению заказов на заводы, по покупке новых аппаратов и т. п.

В течение третьего месяца пребывания в Швеции я пробыл некоторое время в Гетеборге, где работал и испытывал ультрацентрифугу, в точности такую же, с какой нам придется иметь дело. Новинки, введенные в ней, касаются нескольких существенных вопросов, в особенности метода измерения и регулирования скорости. Эта задача решена фирмой по-новому с применением современных радиотехнических приемов и катодного осциллографа. Я на опыте убедился в преимуществе этой конструкции над старой, применяемой до сих пор в Упсале.

Кроме того, опыт моей работы в Гетеборге важен еще и в другом отношении. Эту машину пустили совсем недавно, и работает она безу-

пречно. Весь опыт монтажа и юстировки в Гетеборге был совершенно свежим, в то время как в Упсале период наладки был пройден много лет тому назад. Поэтому для дальнейшей работы все выясненные в это время детали могут оказать неоценимую услугу. К сожалению, испытать на ходу именно нашу машину не удалось, т. к. самая ответственная часть статора – подшипники – не была готова. Но хорошая работа гетеборгской центрифуги, которая вышла из тех же рук, на которой я вполне освоился, вселяет уверенность, что и наша центрифуга будет вполне доброкачественной.

Руководит текстильным институтом в Гетеборге также ученик Сведберга и бывший многолетний сотрудник Упсальского института доцент Граленд. Институт недавно построен, прекрасно оборудован, но работа в нем начата недавно. Все же имеются уже интересные результаты в области исследования волокон, получаемых при комбинировании шерсти с некоторыми синтетическими смолами (например, меламиновыми). В заключение остановлюсь вкратце на посещении двух институтов, составляющих часть Стокгольмского университета, – физического, руководимого Зигбаном, и Института органической и биологической химии, руководимого Эйлером. Физический институт работает в области точной бета-спектроскопии и строит циклотрон несколько меньшего масштаба, чем в Упсале. Я имел возможность видеть спектрографы Зигбана разной конструкции и получил о них ряд данных. В Институте органической и биологической химии ведется комплексное изучение нуклеопротеидов в связи с общей проблемой образования опухоли. Особенно интересны работы Хевеши по изучению нуклеопротеаз с помощью радиоактивных изотопов. Я имел возможность осмотреть эти работы детально и познакомиться с их методикой. Таким образом, за время пребывания в Швеции я освоился с несколькими новыми и важными методами работы с протеинами и высокомолекулярными веществами вообще – ультрацентрифугой, электрофорезом, адсорбционным анализом, диффузией, применением изотопов и спектрофотометрии, познакомился с новыми направлениями научной работы в области протеина и промышленных полимеров, видел лучшие институты университетов и высших школ и некоторые лаборатории промышленности. Полагаю, что опыт, приобретенный мною на ультрацентрифугах в Швеции, в частности на машине в Гетеборге, которая полностью подобна нашей, достаточен для того, чтобы самостоятельно собрать и эксплуатировать ультрацентрифугу в Союзе, поэтому считаю целесообразным закончить командировку 25 сентября с. г. С. Бреслер.

Преподавание в ЛПИ, публичные выступления, частные беседы

Большое место в научной жизни С. Е. Бреслера занимала преподавательская деятельность, которую он начал в 1946 году в должности профессора на физико-механическом факультете ЛПИ. Б. П. Константинов организовал на физмехе в 1947 году кафедру экспериментальной ядерной физики, куда пригласил Бреслера для чтения студентам старших курсов лекций «Радиоактивные элементы». Лекции эти были записаны С. Я. Френкелем и были положены в основу книги, вышедшей в 1949 году под таким же названием. Область ядерной физики и химии тогда бурно развивалась, непрерывно обогащаясь новым эмпирическим материалом. Кроме того, в 1955 году состоявшаяся в Женеве Международная конференция по мирному использованию атомной энергии беспрецедентно широко открыла шлюзы к ранее засекреченным материалам, и не случайно книга выдержала два переиздания, в 1952 и 1957 годах, с существенным расширением ее объема – от 300 (1949) до 550 страниц (1957) соответственно. Прежде всего в ней подкупает простота изложения обширного материала. Энциклопедический труд «Радиоактивные элементы» явился солидным памятником полувековой битвы физиков, химиков, инженеров за понимание и обуздание ядерно-химических процессов, содержащий, кроме того, массу полезных справочных материалов. Судя по данным Интернета, книга востребована и сегодня, и, похоже, не только у студентов. Монография переведена на немецкий и чешский языки.

В 1957 году Семен Ефимович читал на физмехе новый курс лекций «Структурная химия». В 1958 году он начал писать книгу «Физика и химия макромолекул», и к 1960 году им написано около двух третей книги, но ее едва не постигла участь рукописи «–273», и все же в соавторстве с Б. Л. Ерусалимским эта книга вышла в свет в 1965 году. Позже ее перевели на японский язык. В 1961 году Бреслер начал читать сотрудникам своей лаборатории раз в неделю курс лекций по молекулярной биологии, которые активно посещали ведущие сотрудники и профессора других лабораторий ИВС.

В 1963 году вышло в свет первое издание книги «Введение в молекулярную биологию», переизданное в 1966 году, а затем полностью переработанное, дополненное и изданное в 1971 году под названием «Молекулярная биология» (позднее ее перевели на польский, чешский и английский языки). В 1966 году Семен Ефимович создал на кафедре физики изотопов новую специальность «биофизика (молекулярная био-

логия)», а в 1969 году возглавил кафедру физики изотопов, с 1974 года переименованную в кафедру биофизики. В 1973 году вышел в свет сборник «Элементарные процессы генетики», в котором Бреслер вместе с учениками подвел итоги работы лаборатории по новой тематике за первые 10 лет.

Случавшиеся повседневные будничные разговоры на политические или бытовые темы вызывали у Семена Ефимовича скуку и не способны были его расшевелить на какой-нибудь интересный рассказ. Иное дело монографии, лекции и научные беседы, которые раскрывали еще одну грань таланта Бреслера, щедро дарованного ему природой. Речь о способе мышления Учителя, который отливался у него в простые, лаконичные слова, определения, складывавшиеся в чрезвычайно емкие фразы, разделы, главы и в книги. Такой способ мышления обогащался яркой эмоциональной природой, и сочетание этих свойств приводило его к творческим достижениям высокого уровня. Примером служит «Введение в молекулярную биологию» – совсем еще юную отрасль, начавшую в 1960-х годах свое шествие по нашей стране. Бреслеровский талант поддерживает у читателя неослабевающий интерес на протяжении всех 500 страниц этой книги. Еженедельные лекции, которые Бреслер читал сотрудникам лаборатории на протяжении всего 1961 года, явились, собственно, базовым материалом для этого «Введения...», вспоминались и вспоминаются до сих пор добрым словом их прежними слушателями.

Что касается застольных научных бесед, то в случавшихся совместных командировках в Москву я обычно засыпал Учителя вопросами о начальных этапах его научной карьеры, об атмосфере, царившей в академической науке в 20-е годы, и пр. Вот фрагмент одной из таких бесед.

– Семен Ефимович, с какими известными учеными вам довелось сотрудничать в Мекке советской физической науки тех лет – в Физтехе?

– Все было очень просто после того, как я стал студентом физико-механического факультета Политехнического института. Через дорогу от него в пятидесяти метрах располагался Физтех, директором которого был Абрам Федорович Иоффе, являвшийся одновременно деканом физико-механического факультета. Он заботился о том, чтобы мы, студенты, не только налегали на учебу, но и не пропускали семинаров в Физтехе. Там меня увлекли работы лаборатории Николая Николаевича Семенова по разработке механизмов цепных реакций, и вскоре меня, студента физико-механического факультета, зачислили в штат этой лаборатории Физтеха. Надо сказать, что к этому времени основные принципиальные работы по цепным реакциям уже были выполнены:

пик работ пришелся на 1926–1928 годы, которые и принесли Семенову позже Нобелевскую премию. Эти работы показали, какую огромную роль в реализации цепных реакций играют элементарные химические акты, происходящие на границе раздела фаз: начало и обрыв цепей химических реакций происходили не только, вернее, не столько в объеме раствора, сколько на стенках реакционных сосудов. Вот мне и предстояло выяснять физическую природу молекулярных сил, действующих в поверхностных слоях. Исследованию этих проблем я посвятил добрых десять лет, и это было тем более легко и приятно в окружении таких учителей, как Иоффе, Талмуд, Френкель и Кобеко.

– Было ли уже в научном обиходе понятие цепных химических реакций, или оно появилось только после этого цикла экспериментальных и теоретических работ Николая Николаевича Семенова, и что послужило начальным импульсом для постановки такой проблемы?

– Нет-нет, лет за десять до этого Боденштейн обнаружил, что на каждый поглощенный квант света из водорода и хлора образуется до ста тысяч молекул HCl, это и были первые свидетельства существования неразветвленных цепных реакций. Заслуга же Семенова состояла в том, что на огромном экспериментальном материале в разных взаимодействующих системах были исследованы закономерности этих реакций, разработаны их механизмы, и, наконец, открыт новый класс таких реакций – разветвленные цепные реакции. А вот начальным толчком в этой работе, вы не поверите, послужило широкое распространение в те годы в экспериментальной практике диффузионных насосов и простеньких приборов Маклеода для измерения вакуума, и в каждой мало-мальски приличной лаборатории полагалось иметь тогда такую технику. Поначалу перед Семеновым стояла задача уточнить с помощью этой модной техники пределы возгорания фосфора в атмосфере кислорода, ну а что из этого получилось, вскоре стало известно всему миру физиков и химиков.

Часто вспоминается блестящая лекция-экспромт о молекулярных основах иммунитета, прочитанная Бреслером во время прогулки по утреннему морозцу со стайкой учеников на Зимней биологической школе ЛИЯФ 1980 года в Усть-Нарве, и подобных ярких экспромтов в разных, иногда необычных ситуациях в жизни Семена Ефимовича было немало. Очень яркое впечатление на сотрудников Института, собравшихся в огромном актовом зале ЛИЯФ весной 1982 года, произвела его лекция о последних достижениях в молекулярной биологии. Желающих послушать было так много, что все кресла и подоконники зала оказались занятыми, и, признаться, раньше такую большую аудиторию могли собирать разве что концерты Высоцкого.



Живописный портрет С. Е. Бреслера, выполненный А. С. Розиным

В течение полутора часов при полной тишине в зале со сцены раздавался слегка грассирующий голос человека, который то размеренно ходил по сцене, заложив руки за спину и слегка выдвинув свою львиную голову вперед, то приближался к авансцене, созерцая пронизывающим взглядом сразу весь зал, создавая при этом с помощью самых обычных, простых слов волшебную научную сказку. Впервые в жизни пришлось видеть, как после окончания научной лекции зал стоя приветствовал лектора не вежливыми, а бурными аплодисментами. Это было последним публичным выступлением Учителя.

Михаил Ефимович Лобашев

И. А. Захаров-Гезехус



(11.11.1907–04.01.1971)

Михаил Ефимович Лобашев родился в Поволжье, в бедной семье. После смерти родителей в 1919 году мальчик был помещен в один из детских домов Саратовской губернии, однако через полтора года убежал и начал бродяжничать. В 1922 году оказался в школе-коммуне в Ташкенте, где получил среднее образование и квалификацию столяра. В 1928 году приехал в Ленинград, работал на Судостроительном заводе, а в 1929 году поступил в Ленинградский университет на биологическое отделение. Учился на кафедре генетики и экспериментальной зоологии, которой после смерти в 1930 году ее основателя Ю. А. Филипченко заведовал профессор А. П. Владимирский.

Университетский курс окончил за три года. В 1932 году был принят младшим научным сотрудником в Лабораторию (Институт) генетики АН СССР, участвовал в животноводческих экспедициях в Среднюю Азию. В 1932 году поступил в аспирантуру ЛГУ, а в 1935 году защитил кандидатскую диссертацию «О природе действия химических факторов на мутационный процесс», оппонентами на защите были Г. Меллер (будущий нобелевский лауреат) и Г. Д. Карпеченко.

В 1935–1941 годах работал на кафедре генетики ассистентом, потом доцентом, продолжая интенсивную исследовательскую работу на дрозофиле (изучал мутационный процесс, радиоморфозы). В июле 1941 года добровольцем вступил в армию народного ополчения, прошел войну на Ленинградском фронте. Осенью 1945 года вернулся к научной и педагогической работе в ЛГУ, оформил свои исследования в докторскую диссертацию, посвященную цитофизиологической (паранекротической) гипотезе мутационного процесса. В этой работе, защищенной в 1946 году, М. Е. Лобашев связал процесс возникновения мутаций с репарацией поврежденных генетических структур.

В 1948 году Михаил Ефимович был уволен из Ленинградского университета, несколько месяцев оставался безработным, в 1949 году приглашен в Институт физиологии им. И. П. Павлова АН СССР, где

провел серию сравнительных исследований высшей нервной деятельности беспозвоночных (пчел) и позвоночных (рыбы, птицы) животных. Разработал концепцию сигнальной наследственности – преемственности между поколениями животных, основанной на механизме условного рефлекса.

В университет на должность заведующего кафедрой генетики вернулся в начале 1957 года. Под его руководством кафедра стала давать студентам систематическое образование в области генетики. Лобашев подготовил и издал первый послевоенный учебник «Генетика» (1963 год, второе издание – 1967 год), по которому училось несколько поколений студентов университетов страны.

Михаил Ефимович был увлекающейся натурой в том смысле, что делу, которым он занимался, даже тому, которым он был вынужден заниматься, отдавал всего себя. Оказавшись на фронте, Лобашев отдавал войне не только свои физические, но и интеллектуальные силы. Он написал и издал две работы по военному делу, и если первая («Опыт сохранения конского состава в период бескормицы») была связана с его научной специальностью, то вторая («Эксплуатация [автомобильного] газогенераторного парка») стала результатом изучения нового для него материала. (Обе работы изданы в журнале «Тыл и снабжение Красной Армии».)

Оказавшись после августовской сессии 1948 года в Институте физиологии в Колтушах, Михаил Ефимович посвятил себя экспериментальной физиологии. Ему удалось сформировать оригинальное направление – изучение высшей нервной деятельности беспозвоночных, которое продолжало разрабатываться и после его ухода из института. Когда Лобашев вернулся в ЛГУ, для него главным, всецело поглощающим делом стало возрождение и преподавание генетики.

Еще одна черта характера Михаила Ефимовича – его способность увлекать и привлекать людей, черта, которая, быть может, являлась следствием его собственной увлеченности. К нему тянулись не только студенты-биологи, но и совсем далекие от нашей науки люди.

Надо сказать, что собственно в науке Михаилу Ефимовичу удалось сделать немного, но он проявлял прекрасную интуицию, и его идеи и планы намного опережали время. Это и физиологический подход к проблеме мутагенеза, проявившийся еще в середине 30-х годов при работе над его кандидатской диссертацией, и догадка о связи репарации и мутагенеза, высказанная в 1946 году и обоснованная Э. Виткиным в 1967 году, и идея сигнальной наследственности, сформулированная в 1961 году, ставшая разрабатываться за рубежом через несколько деся-

тилетий. В последние годы появлялись, например, публикации о передаче в ряду поколений шимпанзе особых навыков использования ими предметов в трудовой деятельности.

По предложению Михаила Ефимовича в конце 1950-х – самом начале 1960-х годов его сотрудники проводили наблюдения над спариванием петухов с курами разной окраски оперения, что вызывало недоумение – имеют ли эти исследования отношение к генетике. В 80-е годы большую серию результатов подобных исследований (на насекомых) опубликовали английские генетики, их статьи выходили в журнале *Nature*. Можно было бы вспомнить и о других планах и предложениях Михаила Ефимовича, которые не были по-настоящему реализованы главным образом потому, что генетики не имели возможности для спокойной работы, а также и потому, что его сотрудники и ученики не смогли должным образом осознать и разработать ставившиеся проблемы.

Учениками М. Е. Лобашева являются академики С. Г. Инге-Вечтомов, И. А. Тихонович, члены-корреспонденты РАН И. А. Захаров-Гезехус и Н. К. Янковский, многие другие известные генетики. В РБО ЛИЯФ АН СССР работали учившиеся у М. Е. Лобашева выпускники кафедры генетики ЛГУ: И. В. Федорова, Т. Н. Кожина, Б. Ф. Яровой, В. В. Кузнецов, Ю. М. Хромых, С. В. Ковальцова, В. П. Степанова, Л. В. Юрченко, Е. Р. Варенцова, С. В. Марфин, Е. Л. Иванов, составившие основной штат Лаборатории радиационной генетики. Сын Михаила Ефимовича, академик Владимир Михайлович Лобашев (1934–2011), после окончания ЛГУ работал в ФТИ–ЛИЯФ АН СССР, где выполнил кандидатскую и докторскую диссертации, посвященные нейтронной физике, стал членом-корреспондентом АН СССР и лауреатом Ленинской премии.

Вениамин Каверин вспоминал, что создание романа «Два капитана» началось с его встречи с молодым ученым-генетиком Михаилом Лобашевым, которая произошла в санатории под Ленинградом в середине 30-х годов. «Это был человек, в котором горячность соединялась с прямодушием, а упорство – с удивительной определенностью цели, – вспоминал писатель. – Он умел добиваться успеха в любом деле». Лобашев рассказал Каверину о своем детстве, странной немоте в ранние годы, сиротстве, беспризорничестве, школе-коммуне в Ташкенте и о том, как впоследствии ему удалось поступить в университет и стать ученым.

Часть 2

Научные подразделения ОМРБ

Лаборатория генетики эукариот



Лаборатория радиационной генетики – первая лаборатория в РБО

И. А. Захаров-Гезехус

Этот очерк я должен начать с характеристики той ситуации в советской биологии, которая сложилась к середине 1960-х годов. До конца 1964 года продолжалась эпоха лысенковщины, когда в СССР генетика официально третировалась как буржуазная, идеалистическо-метафизическая лженаука. Открытие двойной спирали ДНК (1953 год, физик Ф. Крик и биолог Дж. Уотсон), формулирование идеи генетического кода (1954 год, физик-теоретик Г. Гамов) привлекли к генетике вни-

мание советских физиков, которые начали оказывать поддержку науке о наследственности. В физических институтах, находившихся вне контроля со стороны Т. Лысенко, стали создаваться отделы для разработки проблем биологии, прежде всего для проведения генетических исследований. Такие отделы были созданы И. В. Курчатовым в Институте атомной энергии, Н. Н. Семеновым в Институте химической физики. В то время были актуальны и радиобиологические исследования в связи с развитием атомной энергетики и реальной угрозой ядерной войны.

При создании центра ядерных исследований ФТИ АН СССР в Гатчине, где реактор был запущен в 1959 году, было запланировано строительство радиобиологического корпуса, рассчитанного на работу нескольких лабораторий. К 1964 году этот корпус, получивший номер 50, был почти достроен. К формированию тематики исследований и подбору сотрудников будущего Радиобиологического отдела были привлечены ленинградские ученые – прежде всего физик С. Е. Бреслер, хорошо известный руководству ФТИ, где он сам когда-то работал, радиационный биолог В. П. Парибок (заведовавший лабораторией в Институте цитологии) и радиобиолог А. С. Мозжухин из Военно-медицинской академии. В структуре РБО предполагалась Лаборатория радиационной генетики, на заведование которой был приглашен из Свердловска радиобиолог и цитолог Н. В. Лучник. В 1963 году стало, однако, известно, что подавший в ФТИ документы Н. В. Лучник передумал и переехал в Обнинск, где создавался большой центр радиобиологии и радиомедицины.

В марте 1964 года мне, тридцатилетнему ассистенту кафедры генетики ЛГУ, позвонили коллеги из Института цитологии и сообщили, что мне будет сделано предложение перейти на работу в Гатчину и в перспективе возглавить там Лабораторию радиационной генетики.

Скажу о себе. К весне 1964 года я уже был кандидатом биологических наук, пять лет читал лекции в университете, неоднократно выступал с научными сообщениями как в Ленинграде, так и в Москве. В частности, я был участником проходившего в июне 1960 года в столице симпозиума, посвященного первичным механизмам биологического действия ионизирующей радиации, где мой доклад (по работе, выполненной совместно с моим студентом С. Инге-Вечтомовым) оказался единственным в программе сообщением по генетике. Короче говоря, меня в научной среде знали.

Через несколько дней после звонка друзей из ЦИН состоялась моя встреча с В. П. Парибокком, а на следующий день – с С. Е. Бреслером. От последнего я получил почти официальное предложение и услышал самое для себя важное – что мне дается карт-бланш в отношении

тематики; предполагалось, что в моей лаборатории сотрудников будет вначале четыре, в дальнейшем – 15–20. Мое несамостоятельное положение на кафедре и отсутствие сотрудников тяготило, и я сразу же принял сделанное предложение.

О своем решении я сообщил заведующему кафедрой – профессор М. Е. Лобашев его не одобрил, но согласился. В университете мне надо было закончить учебный год. Осенью я подал заявление об увольнении, однако зачисление в ФТИ затягивалось: начальство было в отпуске. В это время произошли большие события в стране и в нашей науке.

В октябре 1964 года был отстранен от власти Н. С. Хрущев, на поддержке которого держался Т. Лысенко. Сразу же генетика была признана важнейшей наукой, а для ликвидации отставания в этой области стали разрабатываться соответствующие меры. 25 декабря 1964 года было принято постановление Президиума АН СССР, предусматривающее организацию, наряду с другими, и Лаборатории радиационной генетики в филиале ФТИ в Гатчине. М. Е. Лобашев, который в то время был наиболее авторитетным генетиком в Ленинграде, рекомендовал меня в Академии наук как вполне подходящего кандидата на заведование новой лабораторией. К этому времени я уже был зачислен (16.11.1964) на должность старшего научного сотрудника в ФТИ и начал ездить в Гатчину.

Радиобиологический корпус еще не был сдан строителями. Немногочисленные сотрудники размещались в боковой пристройке, которая должна была в будущем стать вивариумом. Здесь работали пять-шесть человек, ученики С. Е. Бреслера, В. П. Парибока, А. С. Мозжухина или рекомендованные ими специалисты. Мне была выделена комната 2.12, в ней был включен первый прибор – холодильник.

В это же время завершалось строительство и оснащение корпуса. 28 декабря комиссия, в состав которой входил и я, приняла так называемую чистую часть корпуса. Работа комиссии традиционно закончилась банкетом с распитием спирта.

В январе 1965 года дирекция филиала ФТИ получила решение Академии наук об организации Лаборатории радиационной генетики, мне была выделена одна ставка стажера – им стала выпускница университета Т. Н. Кожина. Началось составление бумаг с программой и обоснованием работы лаборатории.

Весной был объявлен конкурс на заведование. Пройдя его, 25 июня 1965 года я был утвержден заведующим.

Наконец, было выделено и небольшое число штатных единиц. Я смог зачислить младшего научного сотрудника И. В. Федорову, толь-

ко что окончившую аспирантуру по генетике микроорганизмов, механика Б. Ф. Ярового (после окончания ЛГУ он также стал научным сотрудником), лаборанта и препаратора. В лаборатории начал работать и мой первый аспирант из Всесоюзного института защиты растений (ВИЗР ВАСХНИЛ) М. М. Левитин. В дальнейшем штат постепенно увеличивался. Почти два года лаборатория оставалась единственно официально утвержденной, только к 1967 году был сформирован РБО из нескольких лабораторий, в т. ч. и Лаборатории радиационной генетики.

Тематика лаборатории складывалась следующим образом. С самого начала я не сомневался, что основным экспериментальным объектом будут дрожжи – с этим микроорганизмом я работал в университете, и исследования за рубежом показывали перспективность дрожжей-сахаромицетов как генетического объекта. Первые сотрудники лаборатории не были знакомы с дрожжами, и начали мы с подготовки материала для будущих исследований – с отработки методов гибридизации, получения мутаций, выведения маркированных мутациями линий. Летом 1966 года меня впервые выпустили за границу – на симпозиум по биологии и генетике дрожжей (Братислава, Чехословакия). Там я услышал доклад английского генетика Р. Холидея, выделившего радиочувствительные мутанты у одного из грибов (до того такие мутанты были получены только у бактерий и оказались ценнейшим материалом для разработки проблем генетики и радиобиологии). Я сразу понял, что надо искать такие же мутации у дрожжей, и их изучение стало на многие годы главным направлением деятельности лаборатории. Я также инициировал исследование генетических эффектов радионуклидов, для чего в корпусе были уникальные возможности. Для работы в этом новом направлении были приглашены кандидат химических наук Л. М. Грачева и студент кафедры радиохимии ЛГУ В. Г. Королев.

Хотелось бы отметить следующие полученные нами в первые годы работы важнейшие результаты.

1. Был выделен первый радиочувствительный мутант дрожжей [1]. Его описание появилось в печати одновременно с аналогичными работами американских и японских авторов.

2. При изучении УФ-чувствительных мутантов было показано, что система репарации восстанавливает повреждения не только в хромосомах, но и в геноме митохондрий [2]. Этот результат первоначально вызвал сомнения у зарубежных коллег, которые задержали нашу публикацию в международном журнале.

3. Было впервые показано значительное увеличение частоты спонтанных мутаций у радиочувствительных мутантов, что свидетельствовало о том, что репарации подвергаются не только индуцированные, но и спонтанные повреждения генома [3]. Это было фундаментальное открытие в области изучения мутагенеза.

4. Выделенные нами мутации радиочувствительности дрожжей, как оказалось, относятся к тем же генам, которые были параллельно идентифицированы зарубежными исследователями. Соответственно, в литературе стала использоваться не наша, а американская номенклатура генов радиочувствительности. Исключением оказалась лишь наша мутация *XRS2* – она была уникальной [4]. В дальнейшем нашими сотрудниками ген *XRS2* был картирован, клонирован и секвенирован (последнее, правда, было выполнено в США). Этот ген оказался одним из ключевых генов, управляющих поведением хромосом и метаболизмом ДНК.

5. Было открыто особое явление при спаривании клеток дрожжей, названное цитодукцией [5]. Показано, что при слиянии клеток с той или иной частотой не происходит объединения ядер, в результате чего образуются гаплоидные «гибриды», или цитодуктанты, с ядром одного из родителей и смешанной цитоплазмой. В дальнейшем за рубежом цитодукция была описана у других одноклеточных организмов – грибов-базидиомицетов и водорослей. Как метод анализа цитодукция продолжает успешно использоваться при изучении дрожжевых прионов [6], она же была применена как метод селекции производственных штаммов (в Японии, где были получены дрожжевые штаммы для производства саке).

С самого начала организации лаборатории помимо дрожжей в качестве объекта экспериментальных исследований использовались и фитопатогенные грибы. В дальнейшем эти работы были перенесены М. М. Левитиным в ВИЗР ВАСХНИЛ, где успешно продолжают до настоящего времени. В 1970-е годы сотрудники смогли подготовить и издать четыре книги, в которых подводились итоги первого периода работы лаборатории, а также учебник по генетике микроорганизмов [7–11].

Выше я назвал первых сотрудников лаборатории, проработавших со мной до 1987 года, когда я переехал в Москву. Я тепло вспоминаю и первых лаборантов, пришедших к нам в 1965 году: Любовь Лекаркину и Тамару Лебедеву. Пользуюсь случаем поблагодарить всех, кто работал со мной в Гатчине в 1965–1987 годах, и руководство филиала ФТИ–ЛИЯФ АН СССР, создавших самые благоприятные условия для спокойной и творческой работы.

Литература

1. Захаров И. А., Кожина Т. Н. Мутант дрожжей, сверхчувствительный к УФ-лучам // Докл. АН СССР. 1967. Т. 176. № 5. С. 1417–1418.
2. Zakharov I.A., Kozina T.N., Fedorova I.V. Effetes de Mutations Vers la Sensibilite au Rayonnement Ultraviolet Chez la Levure // Mutat. Res. 1970. V. 9. No. 1. P. 31–39.
3. Захаров И. А., Кожина Т. Н., Федорова И. В. Повышение спонтанной мутабельности у УФ-чувствительных мутантов дрожжей // Докл. АН СССР. 1968. Т. 181. № 2. С. 470–472.
4. Королев В. Г. XRS2 – один из ключевых генов, контролирующих метаболизм ДНК // Успехи совр. биол. 2004. Т. 124. № 3. С. 216–222.
5. Захаров И. А., Юрченко Л. В., Яровой Б. Ф. Цитодукция – автономный перенос цитоплазматических наследственных факторов при спаривании клеток дрожжей // Генетика. 1969. Т. 5. № 9. С. 136–141.
6. Halfmann R., Jarosz D.F., Jones S.K. et al. Prions are a Common Mechanism for Phenotypic Inheritance in Wild Yeasts // Nature. 2012. V. 482. No. 7385. P. 363–368.
7. Захаров И. А., Кривиский А. С. Радиационная генетика микроорганизмов. М.: Атомиздат, 1972. 296 с.
8. Левитин М. М., Федорова И. В. Генетика фитопатогенных грибов / отв. ред. И. А. Захаров. Л.: Наука, 1972. 215 с.
9. Захаров И. А., Кожина Т. Н., Кожин С. А., Федорова И. В. Сборник методик по генетике дрожжей-сахаромицетов. Л.: Наука, 1976. 112 с.
10. Грачева Л. М., Королев В. Г. Генетические эффекты распада радионуклидов в клетках / отв. ред. И. А. Захаров. М.: Атомиздат, 1977. 143 с.
11. Захаров И. А. Курс генетики микроорганизмов. Минск.: Высш. школа, 1978. 158 с.

О первом заведующем Лабораторией радиационной генетики И. А. Захарове

Т. Н. Кожина

Илья Артемьевич Захаров (теперь вернувшийся к своим бельгийским родовым корням И. А. Захаров-Гезехус) – первый заведующий Лабораторией радиационной генетики (в настоящее время Лаборатория генетики эукариот), пришел в Институт в конце 1964 года. Предысторию своего появления в тогдашнем филиале ФТИ он подробно описал в статье «Лаборатория радиационной генетики – первая лаборатория в РБО».

Молодой ученый, уже зарекомендовавший себя зрелым специалистом в области генетики микроорганизмов, он получил широкие полномочия в выборе тематики новой лаборатории и склонился к изучению радиочувствительных мутантов дрожжей – направлению, которое в тот момент уже успешно развивалось в генетике бактерий и открывало

широкие перспективы для решения фундаментальных проблем общей генетики. При создании лаборатории он проявил себя не только как ученый, но и как прекрасный организатор науки. Поскольку до работы в этой новой лаборатории Илья Артемьевич был ассистентом кафедры генетики университета и читал лекции ее студентам, то и основной состав лаборатории стал формироваться из выпускников этой кафедры. Была подобрана молодежь, преданная своему делу, с большим уважением относившаяся к своему руководителю. Немного позднее в лаборатории появились и выпускники кафедры радиохимии, начавшие по инициативе И. А. Захарова работы по изучению генетических эффектов радионуклидов. Так в конце 1960-х годов в лаборатории сформировался коллектив молодых сотрудников, приступивших к активной работе.

Заведующий, которому в тот момент было немногим более 30 лет, был самым старшим из нас, но, несмотря на минимальную разницу в возрасте, пользовался непререкаемым авторитетом. Понимая, что дальнейшая работа потребует от нас гораздо больших знаний, чем те, что мы получили в университете, он прежде всего приступил к нашему дополнительному образованию. В середине 60-х годов в стране начали активно издаваться переводные научные монографии, посвященные проблемам современной генетики. О них мы тогда мало что знали, поэтому освоение этого нового материала нам было совершенно необходимо. Илья Артемьевич читал лекции, а затем тренировал наши головы, давая для решения генетические задачи. Их решение – вещь очень полезная, поскольку классическая генетика – это не только красивая наука, но и способ мышления. Задания давались на дом, на следующих занятиях мы подробно обсуждали ход решения этих задач. Все это было очень интересно и полезно. Следует особо отметить, что Илья Артемьевич обладает крайне ценным для преподавателя качеством – способностью очень просто и доступно объяснять самые сложные вещи.

С первых дней работы лаборатории в ней стали появляться и аспиранты, трудившиеся ранее в других учреждениях. Первым из них стал М. М. Левитин, объектом изучения которого были фитопатогенные грибы. Так, под руководством Ильи Артемьевича в лаборатории впервые в нашей стране были начаты работы по генетике фитопатогенных грибов. В стенах лаборатории была организована группа, которая занималась генетикой энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana*. Результатами этих исследований послужили разработка методов селекционной работы с энтомопатогенными грибами, селекция новых агрессивных штаммов, а на один из отселектированных штаммов было получено авторское свидетельство.

Илья Артемьевич был для нас настоящим Учителем. В лаборатории постоянно проводились научные семинары, сотрудники организовывали Всесоюзные школы по генетике грибов. Первая такая школа состоялась в 1972 году. География ее участников была обширной. Принять участие съехалась молодежь из Грузии, Узбекистана, Украины, Белоруссии. В последующие годы устраивались выездные школы. Была проведена большая школа по генетике микроорганизмов в Ташкенте, где сотрудники читали лекции и проводили практические занятия.

Талант Ильи Артемьевича как педагога неоспорим. В стенах лаборатории он воспитал не один десяток учеников, многие из которых стали известными учеными, продолжающими работать как в рамках нашего Института, так и в других учреждениях страны. Доктор биологических наук В. Г. Королев возглавляет теперь ОМРБ ПИЯФ, руководя также лабораторией, которой ранее заведовал И. А. Захаров. Его первый аспирант М. М. Левитин стал заслуженным деятелем науки РФ, доктором биологических наук, профессором, академиком РАН. Свою дипломную работу выполнял в Гатчине нынешний директор Всероссийского института защиты растений академик РАН В. А. Павлюшин. В Лаборатории радиационной генетики проходила стажировку нынешний доктор наук Л. А. Михайлова и выполнила аспирантскую работу, защитила кандидатскую, а затем и докторскую диссертацию Н. В. Мироненко.

Вспоминая те годы, можно сказать, что в лаборатории царил дух молодого научного братства, атмосфера доброжелательности и интеллигентности. И это тоже можно отнести к заслугам Ильи Артемьевича Захарова. С момента его ухода из стен нашего Института прошло уже почти 30 лет, но он и сейчас продолжает активно работать, интересуется нашими успехами. Созданная им лаборатория продолжает активно жить, однако сейчас она уже совершенно другая – ее состав почти полностью обновился. Изменилась и тематика исследований, которая теперь в основном посвящена изучению роли хроматина в регуляции генетических процессов в клетках эукариот. Эти исследования базируются на методических и идейных разработках, которые были созданы в лаборатории еще в те давние годы. Если раньше мы работали над выяснением механизмов репарационных и мутационных процессов, то в настоящее время изучаем их регуляцию.

Мысленно возвращаясь сейчас к тем годам, что прожиты в лаборатории, руководимой Ильей Артемьевичем, мы, ее представители старшего поколения, испытываем глубокую благодарность за приобщение к высокой Науке. Нам очень хотелось бы, чтобы в нынешней лаборатории царил такой же дух братства и сотрудничества, который там был

всегда, а Илье Артемьевичу мы хотели бы пожелать долгих лет жизни и плодотворной работы. И не забывайте нас, пожалуйста.

Взгляд на новейшую историю Лаборатории генетики эукариот

В. Г. Королев

В Лаборатории радиационной генетики (сейчас Лаборатория генетики эукариот) в 1967 году были описаны радиочувствительные мутанты дрожжей, оказавшиеся ценным материалом для изучения процессов репарации и мутагенеза, а в 1973 году впервые были получены радиочувствительные мутанты многоклеточного организма – дрозофилы, дальнейшее изучение которых дало интересные сведения о механизмах радиочувствительности эукариотических организмов.

В 1976 году И. А. Захаров с соавторами открыл особое явление, названное цитодукцией, состоящее в половом слиянии клеток, при котором смешиваются структуры цитоплазмы, но слияния ядер не происходит. В результате зигота приобретает наследственные признаки, которые кодируются исключительно цитоплазматическими генетическими факторами, в частности митохондриями. В настоящее время это явление широко используется при изучении цитоплазматических наследственных факторов.

Изучение генов, контролирующих регуляцию генетических процессов, сегодня составляет важное направление исследований лаборатории. Было показано, что ряд генов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, контролирующих состояние хроматина (ядерная структура, служащая для упаковки и хранения ДНК), существенно влияет на ход мутационного процесса у этого организма. Показано, что ряд генов, впервые полученных и активно изучаемых в лаборатории на протяжении долгого времени, контролирует мутационный процесс и одновременно имеет отношение к контролю структуры хроматина. Показано, что продукты этих генов работают на разных путях репарации генетического материала клетки. Однако совместное их действие обеспечивает эффективную коррекцию как ошибок репарационного процесса, так и ошибок копирования ДНК. Были выделены мутации в генах дрозофилы, кодирующих некаталитические субъединицы трех белковых комплексов, участвующих в сборке хроматина после ликвидации повреждений ДНК и ее копирования. Было показано, что эти белки образуют комплекс *in vivo* и связываются со специфическими сайтами на хромосомах. В последнее время из лаборатории отпочковались две активно и успешно работающие исследовательские группы, которые приобрели статус самостоятельных лабораторий.

Лаборатория биофизики макромолекул



Взгляд изнутри на прошлое из настоящего

В. В. Исаев-Иванов

Кто познания вино призван в жизни вкусить,
Обо всем, что – не Бог, должен он позабыть.
Тем, кому дан язык, не дозволено видеть,
Тем, кто зрячим рожден, не дано говорить.

Омар Хайям

Я хочу заранее извиниться перед теми читателями, которые были участниками описанных мной событий и у которых может быть другой взгляд на них. Время накладывает свой субъективный отпечаток на события прошлого, особенно если они происходили 50–30 лет тому назад.

Лаборатория биофизики макромолекул (ЛБМ), безусловно, детище Виктора Николаевича Фомичева. Но была предыстория нашей лаборатории, о чем я и хочу вспомнить. Началась она в Ленинградском политехническом институте (ЛПИ), где с 1957 по 1963 год на физико-механическом факультете, на второй кафедре (ныне это кафедра биофизики), учился Виктор Николаевич. До института он увлекался радиотехникой и, став студентом, начал заниматься научной работой на кафедре экспериментальной физики в лаборатории неразрушающих методов кон-

троля, где уже тогда проявились его яркие методические способности, позволившие ему стать лауреатом студенческих конкурсов научных работ ЛПИ. Там же произошла его встреча с Вадимом Федоровичем Мастеровым (впоследствии заведующим кафедрой экспериментальной физики), с которым они остались друзьями на всю жизнь. В 1962 году В. Н. Фомичев попал на дипломную работу в лабораторию Семена Ефимовича Бреслера, и это событие определило всю его дальнейшую научную жизнь. В научной, творческой среде именно этой лаборатории смогли раскрыться способности Виктора Николаевича рассматривать научную проблему широко и находить оригинальное, яркое ее решение.

Я попробую по памяти перечислить людей, которые в то время начинали свою научную карьеру, работали в лаборатории и потом стали сотрудниками ОМРБ. Это Виталий Леонидович Калинин, впоследствии директор Отделения и заведующий кафедрой биофизики; Станислав Викторович Кириллов, заведующий Лабораторией биосинтеза белка; Владислав Александрович Ланцов, заведующий Лабораторией молекулярной генетики и заведующий кафедрой биофизики; Валерий Михайлович Крутяков, заведующий Лабораторией биосинтеза ДНК; Марк Исаакович Мосевичкий, главный научный сотрудник ОМРБ; Евгений Матвеевич Саминский, Даниил Александрович Перумов, Эмбек Николаевич Казбеков, Леонид Михайлович Фирсов – ведущие научные сотрудники ОМРБ. Самому старшему из них, Марку Исааковичу, было тогда 34 года.

После окончания ЛПИ в 1963 году В. Н. Фомичев был принят на работу в ФТИ им. А. Ф. Иоффе на должность старшего лаборанта с прикомандированием его в лабораторию С. Е. Бреслера, которая в то время входила в состав ИВС. В 50–60-х годах прошлого века происходило интенсивное становление резонансной спектроскопии (ЭПР и ЯМР) как в твердотельных исследованиях, так и в водных средах. В 1957 году у нас в стране и в США одновременно были опубликованы две работы, удивительно похожие друг на друга и посвященные анализу чувствительности метода ЭПР на тот момент времени.

Статья С. Е. Бреслера с сотрудниками «Парамагнитно-резонансный спектрометр для изучения химических реакций» была опубликована в ЖТФ [1]. Анализ чувствительности, проведенный в этой работе, содержал все основные положения, которые в последующие годы определили направления развития техники ЭПР-спектроскопии. Я не буду перечислять все пункты этого анализа, но общий подход, который продемонстрировали авторы в этой работе, позволил им создать ЭПР-спектрометр с предельной для того времени интегральной чувствитель-

ностью и в прямом эксперименте исследовать радикальные состояния в твердых полимерах [2].

Еще более важным результатом этого анализа стало понимание путей дальнейшего развития техники ЭПР-спектроскопии в применении к исследованию радикальных состояний в химии и биологии, т. е. в жидкостях, включая воду. Как следует из работы [1], наиболее простой путь увеличения концентрационной чувствительности – это повышение мощности СВЧ-генератора. Но это влечет за собой увеличение избыточных амплитудных и частотных шумов, причем если амплитудные шумы нейтрализуются любой балансной схемой, то нейтрализация частотных шумов требует частотно-независимого баланса.

Как было показано еще в ранних работах по ЭПР, парамагнетик является гиротропной средой, вращающей плоскость поляризации электромагнитного поля. Как известно, для наблюдения гиротропных эффектов в присутствии постоянного магнитного поля H_0 требуется определенное геометрическое соотношение между направлением распространения электромагнитных волн и вектором H_0 . Если направление распространения совпадает с направлением H_0 , мы имеем случай так называемого продольного подмагничивания. Эффекты, наблюдаемые при этом, как известно, сводятся к повороту вектора H плоской электромагнитной волны при прохождении через гиротропную среду. Отсюда следует название среды, а эффект по аналогии с оптикой называется эффектом Фарадея. Если направление распространения перпендикулярно H_0 , то это поперечное подмагничивание, и волна, входя в среду, распадается на две: обыкновенную и необыкновенную, а эффект носит в оптике название эффекта Фойгта, или двойного лучепреломления. При этом если волна имела линейную поляризацию, то на выходе из гиротропной среды она будет эллиптически поляризована. Так обстоит дело в отсутствие поглощения в среде. Если среда поглощает, то при продольном подмагничивании у выходящей волны появится примесь эллиптической поляризации, а при поперечном подмагничивании произойдет поворот плоскости поляризации. Сказанное в полной мере относится к тому случаю, когда гиротропной средой является парамагнетик в условиях резонанса. В зависимости от геометрических соотношений между направлением распространения СВЧ-волн, полем H_0 и СВЧ-полем H парамагнитный резонанс будет трансформироваться в эффекты либо Фарадея, либо двойного лучепреломления. Чтобы использовать указанные эффекты в ЭПР-спектроскопии, необходимо создать условия для наблюдения гиротропных эффектов в резонаторе СВЧ-диапазона длин волн. Это и была основная идея Виктора Николаевича.

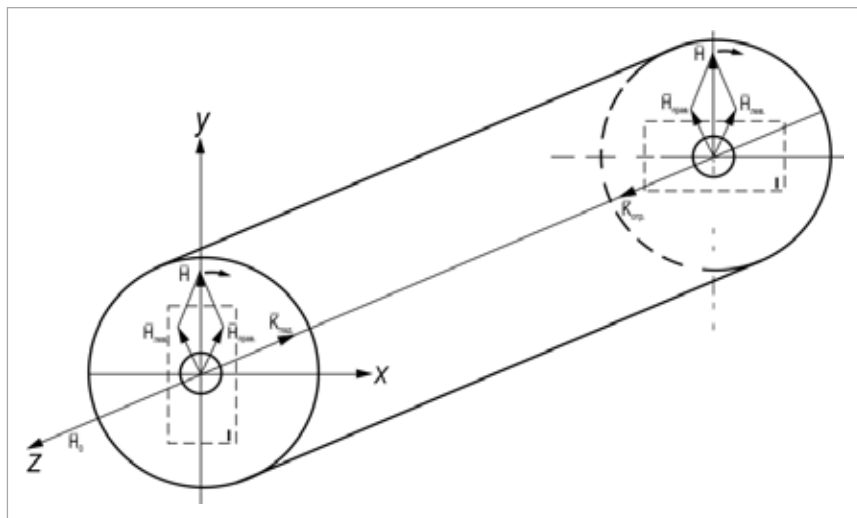


Рис. 1. Схема принципа работы резонатора на основе эффекта Фарадея

В качестве такого резонатора с парамагнитным образцом рассмотрим цилиндрический проходной резонатор с колебаниями H_{11n} , в котором существует плоскость поляризации магнитного СВЧ-поля. Расположим этот резонатор в постоянном магнитном поле H_0 таким образом, чтобы ось его совпадала с H_0 (рис. 1). Пусть резонатор возбуждается волноводом через диафрагму связи в торце резонатора таким образом, что магнитный вектор СВЧ-поля направлен по оси Y . Из рис. 1 видно, что геометрия магнитных полей, с одной стороны, удовлетворяет условиям продольного подмагничивания в гиротропных средах (эффект Фарадея), а с другой – условиям парамагнитного резонанса. Представим линейно поляризованное поле H как суперпозицию двух компонент с право- и левокруговой поляризацией, а стоячую волну в резонаторе как сумму падающей и отраженной волн. Тогда разница в фазовых скоростях между компонентами, обусловленная резонансной парамагнитной дисперсией, приведет к повороту плоскости поляризации падающей волны так, как это показано на рис. 1 слева направо. Резонансное парамагнитное поглощение компоненты с левокруговой поляризацией приведет к появлению примеси эллиптической поляризации в падающей волне. Далее, учитывая граничные условия и изменение направления распространения, можно показать, что отражения от стенок резонатора не приводят к уничтожению эффекта и позволяют использовать эффект Фарадея в ЭПР-спектроскопии.

Если этот же резонатор расположить в постоянном магнитном поле H_0 таким образом, чтобы ось его была перпендикулярна направлению H_0 , то, как видно из [3], геометрия магнитных полей будет удовлетворять условиям поперечного подмагничивания (эффект двойного лучепреломления) и парамагнитного резонанса. При этом парамагнитное резонансное поглощение будет проявляться как поворот плоскости поляризации магнитного СВЧ-поля H , а резонансная парамагнитная дисперсия – как примесь эллиптической поляризации.

Таким образом, трансформируется ли ЭПР в эффект Фарадея или двойного лучепреломления, измерение его в обоих случаях сводится к измерению поворота плоскости поляризации колебаний в резонаторе и к измерению примеси эллиптической поляризации, появляющейся на фоне линейной поляризации.

Для такого измерения удобно по аналогии с оптикой создать как бы сочетание скрещенных «на темноту» николей. В СВЧ-диапазоне для этого достаточно приемный волновод I (рис. 1) расположить на противоположном торце резонатора строго перпендикулярно возбуждающему. Тогда по аналогии с оптикой резонатор в отсутствие ЭПР-сигнала будет настроен на «темноту». В ЭПР-спектроскопии принято говорить, что резонатор в этом случае сбалансирован. В работе [3] показано, что если собственные частоты колебаний в таком резонаторе вырождены ($f_x = f_y$), то независимо от частоты источника СВЧ-колебаний плоскость поляризации в резонаторе будет задаваться только расположением возбуждающего волновода. При этом в приемном волноводе, если он скрещен под 90° к возбуждающему волноводу и в резонаторе нет образца, СВЧ-колебания будут отсутствовать. Такой баланс называется частотно-независимым. Это рассуждения качественные. В работе [3] с использованием эквивалентной электрической схемы резонатора было количественно показано, что для достижения частотно-независимого баланса необходимо уравнивать: 1) частоты собственных ортогональных мод резонатора; 2) связи с этими модами возбуждающей и приемной мод резонатора; 3) потери в обеих модах.

С использованием изложенных принципов в ОМРБ были сконструированы балансные проходной и отражательный резонаторы на основе эффекта двулучепреломления и балансный проходной резонатор на основе эффекта Фарадея. Отличительной особенностью этих резонаторов является простота процесса балансировки, которая осуществляется двумя независимыми органами настройки, при этом степень частотно-независимого баланса составляет 55–60 дБ. Таким образом, предложенный В. Н. Фомичевым переход от обычной регистрации коэффи-

циента отражения или прохождения СВЧ-мощности через резонатор ЭПР-спектрометра к регистрации гиротропных эффектов в условиях парамагнитного резонанса открыл путь к увеличению чувствительности ЭПР-спектроскопии за счет резкого увеличения мощности СВЧ-генератора. Если обычные системы баланса позволяли работать с источниками мощностью 1–10 мВт, то балансные резонаторы за счет высокой степени частотно-независимого баланса могли работать с СВЧ-генераторами мощностью 1–10 Вт.

Я так подробно описываю эту идеологию потому, что, во-первых, это красиво, а во-вторых, заразив разнообразными возможностями приложения этой идеи собственно к ЭПР-спектроскопии других людей, позволило Виктору Николаевичу собрать вокруг себя группу сотрудников, из которой впоследствии и выросла лаборатория. Я познакомился с Фомичевым в 1964 году все на той же кафедре экспериментальной физики, где под руководством В. Ф. Мастерова начинал заниматься наукой, будучи студентом физмеха на второй кафедре. Мы, естественно, называли друг друга по именам: Вадим Федорович всю жизнь для друзей был Дима, а Виктор Николаевич – Витя. Так вот, когда мы встретились с Витей, он как раз «болел» идеей перехода в регистрации эффекта ЭПР от измерения поглощаемой мощности к измерению поворота плоскости поляризации СВЧ-колебаний. Тогда же я познакомился с его манерой вести научную дискуссию. Это всегда было эмоционально, потому что его волновали и обсуждаемая проблема, и сам процесс понимания ее физической сущности. При этом он вас использовал как оппонента, задавал вопросы и с вашей помощью пытался на них ответить. При этом эмоциональный напор был такой, что избежать дискуссии было невозможно, и в конце концов вы в нее втягивались и чувствовали себя участником выяснения истины, как будто исходная предпосылка принадлежала и вам тоже.

Если я правильно помню, в 1966–1967 годах Витя, используя глубокий частотно-независимый баланс описанных резонаторов, оптимальную конструкцию кюветы для образца и простоту резонатора в настройке, реализовал чувствительный модуляционный ЭПР-спектрометр прямого детектирования на основе магнита от японского ЭПР-спектрометра, который был в лаборатории. Результатом этой работы была публикация [3] и американский патент на резонатор.

Шеф, Семен Ефимович Бреслер, решил сделать этой работе рекламу на уровне Президиума РАН. Через Бориса Павловича Константинова, с которым Бреслер был в дружественных отношениях, была создана комиссия Президиума по приемке этой методической разработки. Мне

хотелось бы отметить один примечательный факт в этой истории. В то время очень сильная группа ЭПР-спектроскопии была в составе лаборатории Льва Александровича Блюменфельда в Москве, и, кроме того, он был председателем Совета по радиоспектроскопии при Президиуме РАН. Конкуренция в этой области между лабораториями была довольно жесткой, но научной. Шеф к Блюменфельду относился с уважением. Так вот, Бреслер настоял, чтобы председателем комиссии по приемке разработанной методики был именно Блюменфельд. Комиссия состоялась, и Лев Александрович был в числе первых, кто понял все достоинства предлагаемой идеологии. А она сводилась к регистрации ЭПР путем измерения поворота плоскости поляризации электромагнитного поля в резонаторе ЭПР-спектрометра, а не собственно поглощения СВЧ-мощности в нем. Именно с его подачи эта работа получила премию Президиума Академии наук, и на основе этой разработки Специальное конструкторское бюро аналитического приборостроения АН СССР выпустило ЭПР-спектрометр РЭ-1305. Концентрационная чувствительность этого спектрометра при использовании резонатора на основе двулучепреломления составила 10^{-8} моль по водному раствору соли Mn^{++} при времени регистрации ~ 30 мин, объеме образца $0,1 \text{ см}^3$ и мощности источника СВЧ-колебаний 1 Вт. Резонатор на основе эффекта Фарадея на этом же спектрометре и в этих же условиях позволял добиться чувствительности $5 \cdot 10^{-9}$ моль.

Такая концентрационная чувствительность стала основой работы, в которой авторы, используя резонатор на основе двулучепреломления, наблюдали непосредственно в резонаторе ЭПР-спектрометра свободные радикалы в реакции гомогенной жидкофазной полимеризации. В этой же работе впервые прямым способом была измерена константа скорости роста полимерных цепей в реакции полимеризации стирола.

В 1968 году Витя получил квартиру и переехал из Ленинграда в Гатчину. В это время в РБО, 50-й корпус, существовала Лаборатория молекулярной биологии, научным руководителем которой был С. Е. Бреслер, а оперативным руководителем – Станислав Викторович Кириллов. Именно из нее так или иначе вышли все лаборатории ОМРБ, работающие в области молекулярной биологии. В ней же в Гатчине начал работать и В. Н. Фомичев. Группа вокруг него начала формироваться с 1970 года, когда на дипломную работу в ЛИЯФ пришел Вячеслав Анатольевич Рыжов, среди знакомых и друзей – Слава. В это же время стали работать Володя Турутин, Надежда Ивановна Огурцова. Я пришел в 1972 году после окончания аспирантуры ЛПИ. В этом же году была создана группа биоэлектроники под руководством Виталия Викторовича Лаврова, в которой работали Евгений Иванович

Завацкий, Геннадий Константинович Анисимов, Галина Васильевна Стабникова.

В этом же и в следующем году в результате многократных обсуждений, инициатором которых был Витя, обозначились три методические темы, которыми мы и занимались в начале 70-х. Здесь, по-видимому, необходимо некоторое историческое отступление. Дело в том, что проблема повышения чувствительности еще на заре становления метода ЭПР привела Е. К. Завойского к применению модуляции магнитного поля. Именно этот метод регистрации сигналов ЭПР используется в подавляющем большинстве спектрометров. В начале развития метода ЭПР частоты модуляции магнитного поля были низкими, и поэтому чувствительность в сильной степени определялась избыточными шумами источника СВЧ-колебаний. Однако по мере совершенствования техники СВЧ и применения полупроводниковых СВЧ-детекторов стало понятно (и это обсуждается в работе [1]), что повышение частоты модуляции магнитного поля нейтрализует эти избыточные шумы, и чувствительность метода приближается к теоретически допустимой. Кроме того, анализ чувствительности в зависимости от амплитуды модуляции магнитного поля [1] показал, что она оптимальна при амплитуде модуляции магнитного поля, соизмеримой с шириной регистрируемой линии. При этом, однако, происходит полная потеря информации о форме регистрируемой линии. В ранних методических работах этому обстоятельству не уделялось достаточного внимания, т. к. остро стояла проблема чувствительности. Однако по мере совершенствования спектрометров и приближения их чувствительности к теоретически достижимой, а кроме того, по мере развития теории формы линии сигнала ЭПР становилось ясным, что модуляционный способ регистрации ЭПР содержит в себе внутреннее противоречие между чувствительностью и точностью регистрации формы линии (или информативностью). К концу 60-х – началу 70-х годов стало ясно, что информацию о форме регистрируемой модуляционным способом линии ЭПР можно получить, только принеся в жертву чувствительность спектрометра.

Балансные резонаторы на основе гиротропных эффектов позволяют разрешить указанное противоречие радикальным способом – отказаться от модуляции магнитного поля. Появление при этом избыточных низкочастотных амплитудных и частотных шумов источника СВЧ-колебаний полностью нейтрализуется высокой степенью частотно-независимого баланса описанных балансных резонаторов. Другой источник шумов, который при отказе от модуляции магнитного поля будет опре-

делять чувствительность спектрометра, – это шум типа $1/f$ -кристаллического СВЧ-диода. Эта проблема к началу 70-х годов была решена за счет появления туннельных обращенных диодов в трехсантиметровом диапазоне длин волн.

Эти два обстоятельства позволили нам совместно с группой биоэлектроники разработать принципы метода регистрации и создать безмодуляционный ЭПР-спектрометр трехсантиметрового диапазона длин волн. Принципы безмодуляционного метода регистрации сигналов ЭПР состоят в следующем. Магнитное поле периодически сканируется на величину, равную наблюдаемой части спектра. Сигнал на выходе СВЧ-детектора в этом случае представляет собой периодически повторяющийся неискаженный ЭПР-спектр, а амплитуда сигнала равна амплитуде линии поглощения, или дисперсии. Этот сигнал усиливается широкополосным усилителем, полоса пропускания которого выбирается таким образом, чтобы при данной скорости прохождения спектра иметь заданную величину его искажений. Далее одновременно с развороткой магнитного поля осуществляется накопление сигнала.

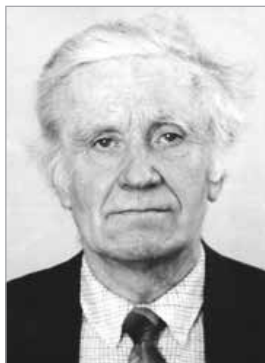
Чувствительность этого способа в отсутствие избыточных шумов источника СВЧ-колебаний и детектора всегда выше, чем в методе, использующем модуляцию магнитного поля, при одинаковых временах регистрации по следующим причинам: 1) амплитуда линии поглощения (дисперсии), регистрируемая безмодуляционным способом, всегда больше амплитуды первой гармоники сигнала [1], регистрируемого модуляционным способом при «оптимальной» модуляции магнитного поля; 2) если спектр мощности шумовой составляющей возрастает в сторону низких частот, то накопление дает более высокую чувствительность, чем однократное измерение равной длительности.

Отличительными особенностями безмодуляционного способа регистрации является, во-первых, широкополосное усиление, во-вторых, накопление с частотой сканирования. Подробное изложение принципов безмодуляционного метода регистрации ЭПР и описание спектрометра, разработанного и построенного в соответствии с этими принципами, опубликовано в [4, 5] и защищено авторскими свидетельствами.

Цикл работ по безмодуляционному способу регистрации радикально разрешает противоречие модуляционного способа между чувствительностью и точностью регистрации формы линии сигнала ЭПР, позволяя создать «абсолютный» в физическом и техническом смысле спектрометр. Правда, следует отметить, что многие решения при том не являются технически простыми. Это один из первых проектов, начатых нами в 1972–1973 годах.

Вторая тема, или по нынешней терминологии проект, была связана с проблемой регистрации первичных радикалов, возникающих при радиолизе воды, и вообще радиационно-химических исследований в водных растворах. Прямым методом исследования этих состояний является ЭПР-спектроскопия. Принципиальная трудность таких измерений, как и в биологических системах, была связана с низкой чувствительностью существующих тогда ЭПР-спектрометров из-за больших диэлектрических потерь в воде. С этими проблемами можно было справиться, применяя разработанные балансные резонаторы, использование которых позволяло увеличить чувствительность как за счет увеличения мощности источника СВЧ-колебаний, так и за счет оптимальной, в смысле диэлектрических потерь, конструкции кюветы. Так как концентрационная чувствительность при применении балансных резонаторов была известна, требовалось сделать оценку мощности дозы, которую в виде электронного пучка следовало бы завести в кювету резонатора, чтобы в режиме онлайн наблюдать радикальные состояния под пучком.

Работ, демонстрирующих применение ЭПР к исследованию радиационно-химических реакций в резонаторе спектрометра в водной фазе, в то время была одна или две. В качестве источника электронов в них использовался линейный ускоритель, пучок которого «пробивал» водный образец, и это приводило к паразитным наводкам и дополнительному понижению чувствительности. Наши оценки показывали, что использование электронного пучка рентгеновской трубки напряжением 100 кВ позволяет достичь в балансном резонаторе спектрометра стационарной концентрации радикалов порядка



В. А. Соловьев

10^{-7} – 10^{-8} моль, что может быть зарегистрировано спектрометром. При этом немаловажным обстоятельством являлся тот факт, что все электроны при этой энергии пучка тормозились в образце и не могли создавать паразитную модуляцию сигнала ЭПР. Оставалось создать собственно эту «пушку», чтобы завести пучок в резонатор. Именно этим мы со Славой Рыжовым и занимались летом 1972 года. Я это хорошо запомнил потому, что это был первый год моего пребывания в ЛИЯФ, и потому, что летом этого года стояла немыслимая жара, и мы со Славой работали, накинув на голое тело рабочий халат. Большой вклад в последующее время в конструирование и изготовление этого «железа» внес старейший сотрудник Института Виктор Александрович Соловьев.

Здесь я хотел бы сделать отступление, прежде чем описывать третий проект, которым мы очень активно занимались в эти годы.

Дело в том, что в то время у шефа, С. Е. Бреслера, была идея, что в некоторых ферментативных реакциях переходный комплекс «фермент – субстрат» имеет состояние, в котором эта система имеет неспаренный электрон, т. е. парамагнитное состояние. Это была одна из основных причин поиска методических решений, обеспечивающих повышение чувствительности метода ЭПР при работе в водной фазе. При этом было понятно, что неспаренный электрон в зависимости от типа ферментативной реакции может находиться в разных состояниях, которые обеспечивают различный механизм релаксации, а следовательно, и ширину регистрируемой линии. Здесь необходимо напомнить, что площадь под резонансной кривой пропорциональна количеству неспаренных электронов в образце. Поэтому если при одинаковом количестве спинов в двух образцах в одном из них ширина линии 1 Э, а в другом 1 000 Э, то интенсивность линии второго образца будет на три порядка меньше первого. В предельном случае ширина линии может быть соизмерима с H_0 и более, поэтому в этих случаях чувствительность резонансного метода ЭПР стремится к нулю.

Еще более широкая область возможного использования метода ЭПР – это исследование триплетных состояний (например, в исследовании фотопроцессов, которые идут через триплетное состояние). В этом случае точно известно, что парамагнитное состояние есть (спин = 1), но исследовать это состояние путем регистрации ЭПР в водной фазе невозможно из-за большой скорости релаксации и в силу этого очень большой ширины линии. Регистрация этих состояний возможна только при глубокой заморозке объекта (температура жидкого азота), что для биологических образцов во многом теряет смысл.

Идея создания метода регистрации парамагнитных состояний, имеющих очень широкие линии ЭПР, обладающего чувствительностью, соизмеримой с чувствительностью метода ЭПР, мучила Витю уже тогда, когда мы познакомились с ним в Политехе. Поэтому в ЛИЯФ, когда вокруг него появилась группа сотрудников, он очень часто возвращался к обсуждению этой задачи. Центральная идея, вокруг которой потом все закрутилось, родилась в голове у Вити. В один прекрасный день, как пишется в книгах, он пришел в лабораторию с вопросом, касающимся природы релаксационных процессов в спиновых системах. Дело в том, что Витя увлекался феноменологическим уравнением Блоха для макроскопической намагниченности, пытаясь решать его для некоторых интересующих его случаев. В этих играх с уравнением он пред-

положил, что если хорошо известная зависимость времен релаксации T_1 (спин-решеточное) и T_2 (спин-спиновое) от напряженности внешнего постоянного магнитного поля сохраняется и для мгновенного значения амплитуды внешнего переменного магнитного поля, то уравнение Блоха станет нелинейным. Это приведет к тому, что, помещая парамагнитный образец в магнитное поле вида $H(t) = H_0 + H_1 \sin \omega t$, в силу нелинейности системы можно регистрировать отклик системы в виде высших гармоник намагниченности на частотах, кратных частоте ω .

Начались многодневные дискуссии о природе спин-решеточной и спин-спиновой релаксации в жидкости, которая в то время была достаточно хорошо разработана. Другая проблема состояла в том, что необходимо было решить уравнение Блоха в этом нелинейном режиме, и желательнее в аналитическом виде, чтобы сделать оценку на величину предполагаемого эффекта. Этот теоретический «запой» продолжался, если мне память не изменяет, месяца три. Мы обсуждали проблему, делали математические выкладки, при этом продолжали делать и текущие работы, о которых я писал ранее и которые требовали и обсуждений, и тестовых измерений, и конструкторских разработок, связанных с балансными резонаторами.

Примерно к этому времени относятся мои воспоминания: бывает, утром приходишь на работу не в форме, бытовуха заела, дети болеют, не выспался, а Витя ночью (он много работал по ночам) что-то придумал, и ему просто позарез надо это с кем-нибудь обсудить. Разговор начинается вяло, у меня плохо работает голова, я без энтузиазма пытаюсь что-то отвечать. Витя это видит и говорит свою любимую фразу: «Володя, напряги мозжечок». Постепенно под давлением его эмоций и оптимизма начинаешь вникать в проблему, переходишь в систему отсчета, где происходит обсуждение научных идей, и бытовые проблемы отступают на второй план, и ты заряжаешься этой эмоцией и этим оптимизмом и приходишь в рабочую форму. Природный жизненный оптимизм, который Витя излучал, притягивал к нему людей.

Нам удалось найти, пользуясь нестационарной теорией возмущения для двухуровневой системы в жидкости при знании ее гамильтониана и спектра тепловых флуктуаций, зависимость времени релаксации от напряженности внешних магнитных полей, частоты и времени. Используя эту зависимость, мы нашли решение феноменологического уравнения Блоха в условиях малости параметра $\Delta T(H)/T_0 \ll 1$ и в условиях $\Delta T(H)/T_0 \geq 1$ при наложении на систему полей вида $H(t) = H_0 + H_1 \sin \omega t$. Анализ величины эффекта показал, что отношение амплитуды намагниченности второй гармоники к $\chi_0 H_1$ может достигать величины в 25 %.

Когда мы увидели, что у нас что-то получается и величина эффекта вполне реальна для экспериментального наблюдения, Витя сказал: «Мы начинаем вариться в собственном соку – пора выходить на люди». Ну и куда мы могли пойти? Конечно, к теоретикам. Витя был в приятельских отношениях с Аркадием Ароновым и попросил его устроить для нас семинар в Теоротделе. Отдельно хотелось бы сказать об Аркадии Аронове. Он обладал удивительной способностью понимать как тонкости экспериментальные и особенности размышлений экспериментатора, так и самые изощренные теоретические и математические методы решения физических проблем. Он, можно сказать, был нашим шерпом на семинаре в Теоретическом отделе. Семинар был долгим и бурным, но в конце мы достигли консенсуса. Основным нашим оппонентом был Сергей Владимирович Малеев. Ему не нравилось то, что проблема решалась с помощью феноменологического уравнения Блоха, а не с помощью квантовой механики. Консенсус состоял в том, что для системы со спином $\frac{1}{2}$ уравнение Блоха выполнялось, а более сложные системы требовали привлечения квантовой механики. Затем было производственное совещание у Олега Игоревича Сумбаева на предмет опубликовать этот новый эффект или патентовать. Потом мы ездили с семинаром в Казань, где, как нам казалось, сумели донести до аудитории наши идеи. Но публикация наша не проходила в печать. Нелинейность в парамагнетиках за счет зависимости времени релаксации от мгновенного значения магнитного поля как-то плохо доходила до рецензентов. Тогда Семен Ефимович сказал: «Поезжайте на семинар Виталия Лазаревича Гинзбурга. Если вы докажете свою правоту на его семинаре, то вас опубликуют в любом журнале». Он договорился о семинаре, и мы поехали к Гинзбургу. Доклад на семинаре делал Витя, первым все понял Виталий Лазаревич и объяснил аудитории суть дела, атмосфера была очень благожелательной. При отъезде из Москвы по дороге в аэропорт мы заглянули в ресторан «Прага» и по случаю нашего успеха пообедали там, не преминув заказать пару бутылок коньяка. После этого семинара мы смогли опубликовать нашу работу по нелинейности в парамагнетиках в ЖЭТФ [6].

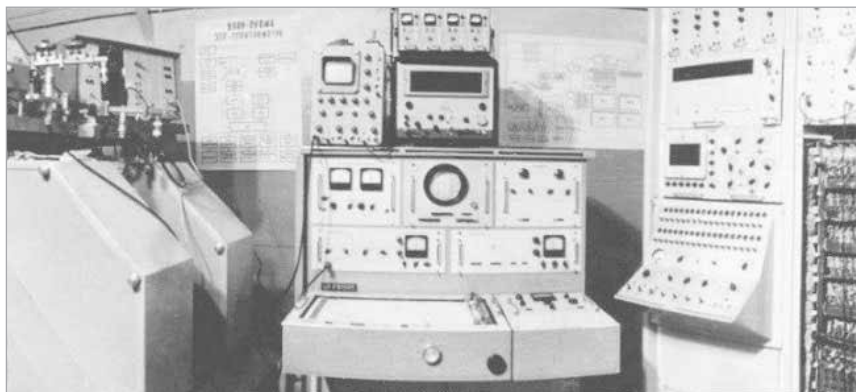
Выяснение природы обнаруженных эффектов показало, что к нелинейным откликам системы приводят «запрещенные» переходы в параллельных полях. Позже была выяснена природа и паразитного сигнала, сильно ограничивавшего реальную чувствительность установки, что позволило приблизиться к уровню, близкому к теоретической чувствительности. Созданная установка с успехом использовалась, в частности, для исследования высокотемпературной сверхпроводимости купратов. В настоящее время она применяется для изучения других

систем с сильными электронными корреляциями, манганитов и кобальтитов, обладающих свойством колоссального магнетосопротивления. Эти системы склонны к фазовому разделению, и образующиеся фазы обладают разными нелинейными магнитными свойствами, что делает использование нелинейного отклика при их исследовании очень чувствительной и информативной методикой. В последнее время установка адаптирована для исследований магнитных наночастиц, обладающих сильной нелинейностью в слабых внешних полях, что обеспечивает высокую чувствительность при регистрации их нелинейного отклика. Такие наночастицы находят все более широкое применение в разных областях, включая медицину и биологию. Модифицированная установка запатентована.

Не знаю, как Слава Рыжов, а я очень сожалею, что метод нелинейного отклика в парамагнитных системах не удалось довести до ума в приложении к триплетным состояниям в биологических системах. В настоящее время при массовом использовании в биологических системах флуоресцентных меток это могло бы быть очень актуальным.

В 1974–1975 годах мы запустили в работу безмодуляционный ЭПР-спектрометр с цифровой системой регистрации – это был первый в стране прибор такого класса. Выпуск, конечно, был бы невозможен без сотрудников группы биоэлектроники во главе с Виталием Викторовичем Лавровым.

Так выглядел прибор в то время, когда еще его можно было использовать в обычном модуляционном режиме с аналоговой системой регистрации и в безмодуляционном – с цифровой системой регистрации. В общем, гибрид.

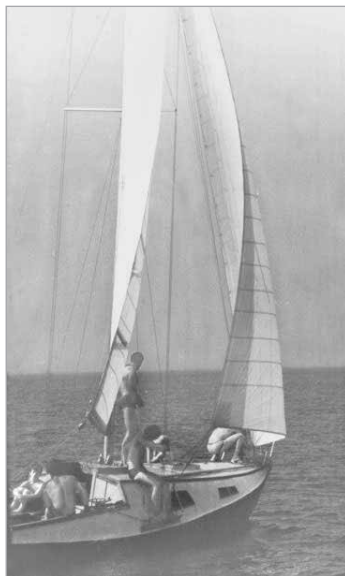


Безмодуляционный ЭПР-спектрометр с цифровой системой регистрации

Очень хотелось бы передать ощущение той среды и атмосферы, в которых происходили все эти события. Среда была очень дружественная, и ее градус, если можно так выразиться, задавал Витя. Я не помню случая ни тогда, когда мы были еще группой и он был ее лидером по существу, а не по должности, ни после, когда он был директором отделения, чтобы Витя кричал на человека. Это невозможно себе представить. Иногда, когда он начинал разговаривать со знакомым человеком, он рукой касался его плеча, и это вызывало доверие. Витя был лидером не только в науке, но и по жизни. В нашей семинарской мы два раза в день устраивали чаепитие, и за ним обсуждались не только научные дела, но и политика, кино, литература, Высоцкий, Окуджава, и в этих обсуждениях Витя всегда был оригинален... Он что-то такое знал, чего мы еще не знали в силу возраста. И эта какая-то внутренняя не по годам мудрость (мы все были ровесниками) делала его лидером и в жизни. Работали мы в те года много, я бы сказал, продолжительным запоем.

Припоминаю такую картину: в начале июня мы группой из четырех человек возвращаемся с работы около двух часов ночи, белой ночи, – кругом тишина, и в этой тишине сопровождает нас многоголосый хор соловьев Орловой рощи.

Живописной группой мы ходили обедать в столовую, и по дороге, и за обедом – снова обсуждения, дискуссии о науке, о жизни.



На яхте

В то же время Витя многих из нас заразил еще и парусным спортом. Мы строили яхты и ходили на них по Чудскому озеру, участвовали в парусных регатах, но это отдельная история.

В 1976 году к нам в группу пришла Марина Попова. Она только что окончила школу и устроилась к нам лаборантом. Наблюдая нас в течение некоторого времени «изнутри» и обладая художественными способностями, она изобразила нас так, как это ей виделось в то время, когда мы были молодыми.

В 1977 году в отделении произошла революция и к власти пришла партия молекулярной биологии во главе с Семеном Ефимовичем Бреслером, а заместителями у него стали Виктор Николаевич Фомичев и Станислав Викторович Кириллов.



Виктор Николаевич за работой на ЭПР-спектрометре (середина 70-х годов)

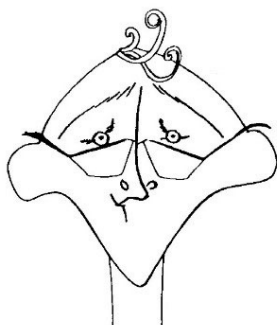


По дороге в столовую. Слева направо: Владимир Васильевич Турутин, Рудольф Павлович Девятериков, Валерий Михайлович Крутяков, Владимир Васильевич Исаев-Иванов, Виктор Николаевич Фомичев, Вячеслав Анатольевич Рыжов

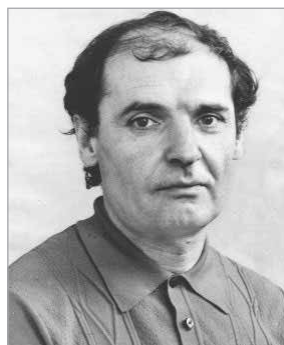
*Группа В. Н. Фомичева в двух ипостасях –
реальной и художественной (в рисунках Марины Поповой)*



Виктор Николаевич Фомичев



Вячеслав Анатольевич Рыжов



Генрих Андреевич Багян



Владимир Васильевич Исаев-Иванов



Рудольф Павлович Девятериков



Анатолий Маркович Качурин



Слева направо: Виктор Николаевич Фомичев,
Виталий Викторович Лавров, Генрих Андреевич Багиян

В отделении были сильно сокращены научные направления, связанные с радиобиологией. В организационном смысле мы по-прежнему оставались группой радиоспектроскопии в составе Лаборатории молекулярной биологии, работая в тесном контакте с группой биоэлектроники под руководством Виталия Викторовича Лаврова.

Думаю, что году в 1975-м у нас в группе появился Толя Качурин (Анатолий Маркович)

Примерно в это же время, а может быть, чуть позже, мы получили ЯМР-спектрометр фирмы «Тесла» с рабочей частотой 80 МГц. Использовать его для структурных исследований было невозможно при такой частоте, поэтому им пользовались для химических исследований. Но Анатолий Маркович Качурин, немного переделав регистрацию спектрометра, научился на нем измерять парамагнитный сдвиг резонансных ядер, когда вблизи них находится неспаренный электрон. Это был еще один метод регистрации парамагнитных состояний в растворе независимо от ширины линии парамагнитного резонанса. Этим методом Толя убил идею шефа о наличии в переходном состоянии у ферментов неспаренного электрона. Он показал, что у фермента под названием пероксидазы хрена при его работе парамагнитный сдвиг равен нулю.

Это привело к тому, что мы начали использовать созданный нами безмодуляционный ЭПР-спектрометр с цифровой системой регистрации для исследований конформационных состояний в биологических макромолекулах методом спиновой метки.

В качестве примера применения этого метода я хотел бы коротко изложить суть работ [7, 8], выполненных в ОМРБ группой сотрудников из нашей лаборатории, Лаборатории биосинтеза белка и Лаборатории оргсинтеза на спин-меченой тРНК^{Phe}. Используя возможности безмодуляционного способа регистрации спектров ЭПР, мы обратили внимание на тот факт, что, с одной стороны, регистрируемые в эксперименте спектры ЭПР спин-меченой тРНК^{Phe} представляли собой хорошо разрешенные триплеты, характерные для условий быстрого движения спиновой метки на макромолекуле, а с другой стороны, анализ формы линии компонентов триплетта не давал функции Лоренца, также характерной для условий быстрого движения спиновой метки. Анализируя форму экспериментальных линий в зависимости от температуры, pH, концентрации Mg⁺⁺ и биологического состояния тРНК (деацилированная, аминоацилированная или аналог пептидил-тРНК) и сравнивая ее со спектрами, синтезированными на ЭВМ, мы смогли убедительно доказать, что тРНК^{Phe} из *Escherichia coli* в растворе всегда находится в смеси конформеров (по меньшей мере двух) независимо от ее биологического состояния и условий среды. Так как в этих экспериментах на безмодуляционном ЭПР-спектрометре регистрировалась линия поглощения, то одним из прямых доказательств существования конформеров служили изосбестические точки на серии спектров в зависимости, например, от температуры (рис. 2).

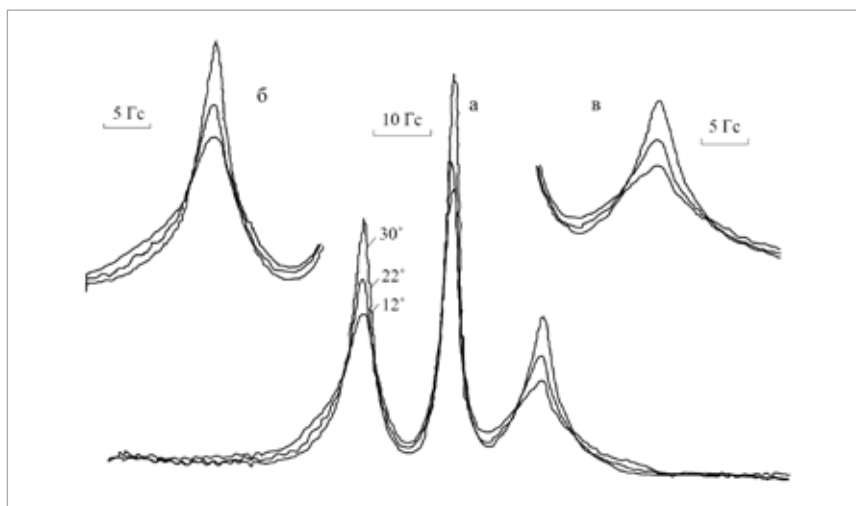


Рис. 2. Серия спектров в зависимости от температуры, полученная на AcPhe-тРНК^{Phe}

Следует отметить, что наблюдение таких изосбестических точек на спектрометре с использованием модуляции магнитного поля невозможно.

В связи с этой работой вспоминается эпизод. Первые данные мы послали в журнал «Молекулярная биология». Пришедший отзыв рецензента был более чем положительный, заканчивался он фразой «Прошу редакцию не скрывать от авторов фамилии рецензента», и ниже стояла размашистая подпись Льва Александровича Блюменфельда. Потом мы более уточненную версию этой работы опубликовали в журнале *Nucleic Acids Research*. Как утверждает Станислав Викторович Кириллов, американцы получили такой же результат спустя восемь лет. Однако ссылки при описании конформационной лабильности тРНК идут на американскую работу.

В марте 1978 года наша группа под руководством Виктора Николаевича Фомичева официально стала лабораторией (в то время эта структура называлась сектором).

С этого времени лаборатория стала разрастаться как на дрожжах. Я могу ошибиться в последовательности событий, но, по-моему, первой к нам перешла группа Генриха Андреевича Багияна из Лаборатории оргсинтеза, Пеймера – влияние малых доз радиации, потом появилась группа Валентина Алексеевича Носкина из Лаборатории нейтронных исследований, а в начале 80-х присоединился Леонид Михайлович Фирсов, приведя с собой молодых людей: Александра Михайловича Голубева, Кирилла Николаевича Неустроева и Фариду Миникасимовича Ибатуллина.

В 1983 году умер Семен Ефимович Бреслер. Директором отделения стал Виктор Николаевич Фомичев.

В 80-х группа Г. А. Багияна добилась больших успехов в разработке оригинальной технологии очистки нефти от серы, доведя свой способ очистки до полупромышленных испытаний.

В начале 80-х сотрудниками группы В. А. Носкина Алексеем Ломакиным и Мариной Ивановой с помощью методов регуляризации было найдено корректное решение обратной задачи метода динамического светорассеяния.

Чуть позже на базе нашей лаборатории и лаборатории Владимира Петровича Плахтия (Отделение нейтронных исследований) была создана группа рентгеноструктурного анализа белков. С нашей стороны это была группа Леонида Михайловича Фирсова. В ее планы входила кристаллизация белка глюкоамилазы. Дело в том, что в то время кристаллов гликопротеинов не существовало. Присутствие сахаров

на поверхности белка осложняло процесс кристаллизации. Группа Фирсова кристалл получила. К сожалению, «железа», т. е. кристаллографа, на тот момент времени не было сделано, а потом началась перестройка.

Но Леонид Михайлович Фирсов с Сашей Алешиным поехали по приглашению в Стэнфордский университет и там разрешили структуру глюкоамилазы. Это были 1990–1991 годы.

Началась перестройка, молодые люди стали уезжать на Запад, уходить в бизнес, настали непростые времена. Виктор Николаевич очень трудно переживал этот процесс, но объективные реалии были неумолимы. Я думаю, это и подвигло его на создание базовой специальности. В 1996 году, если мне не изменяет память, он делился со мной своими взглядами на эту проблему. Фомичев считал, что при таком оттоке молодых людей из нашей науки, если мы сами не найдем решения, отделение умрет. Времена были сложные, непонятно, как самим выжить, а тут еще и образование молодых людей брать на себя. Чтобы молодой человек мог встать на ноги и стать самостоятельным сотрудником, ему нужно было не только окончить университет, но и поработать лет пять в науке или пройти аспирантуру, т. е. это лет 10. На этот аргумент Витя отвечал, что в противном случае мы через 10 лет умрем как научное подразделение, и выбора у нас нет. Он поехал к бывшему в то время заведующим кафедрой биофизики Валентину Рыбчину с предложением расширить тогдашнюю программу обучения на кафедре, которая больше тяготела к генетике, путем введения дисциплин, направленных на изучение структурной биологии.

Разговор у них не получился, хотя они оба выпорхнули из гнезда Семена Ефимовича. Витя приехал злой, применял неформальную лексику, я давно его таким не видел. Потом, успокоившись, сказал «Надо ехать к Диме», имея в виду Вадима Федоровича Мастерова, который в то время заведовал кафедрой экспериментальной физики, где они вместе начинали. Наши дружеские отношения все эти годы не прекращались. Дима отличался от нас всех тем, что с молодых лет занимался обучением студентов. Он в одинаковой степени болел наукой, которая называется физикой, и образованием в этой науке студентов. Витя и поехал к старому другу. Дима ни секунды не думал. Он сразу понял связь физики и биологии в структурных исследованиях и предложил органи-



Л. М. Фирсов

зовать выпускающую специальность у себя на кафедре. И дело покати-лось.

Виктор Николаевич выступил на большом ученом совете Поли-технического университета – совет одобрил, одобрил ректорат. Труднее было с помещениями под сам Научно-образовательный центр (НОЦ), но и это пробил Вадим Федорович. Университет выделил помещения кафедре экспериментальной физики под этот проект на улице Хлопина, 9, в бывшем аспирантском общежитии. Эти помещения надо было отре-монтировать, что в те времена было очень непросто, но это уже другая история. В конце 1999 года на праздновании 80-летия физико-механи-ческого факультета В. А. Назаренко и ректор Политехнического Васи-льев подписали договор о создании НОЦ. К этому времени не было уже с нами ни Виктора Николаевича Фомичева, ни Вадима Федоровича Ма-стера.

В деле создания этой новой специальности очень важную роль сыграли еще два человека – Генрих Андреевич Багян и Владислав Александрович Ланцов. Генрих Андреевич в те трудные времена сумел запустить систему отбора будущих студентов и дополнительной подго-товки среди учащихся школы № 3 в Гатчине.

Владислав Александрович организовал небольшую группу со-трудников ОМРБ, которая сгенерировала программу курсов лекций для новой специальности, а он сумел на эти лекции найти в Петербурге и ОМРБ сильных лекторов. Таким образом, нам удалось создать сквоз-ной поток молодых людей от школы до кандидатской диссертации. В нашей лаборатории таких молодых людей, которые прошли весь путь, двое – это Андрей Илатовский и Алексей Швецов. Есть и в других лабо-раториях – Витя оказался прав и тут.



К. Н. Неустроев

В 1998 году после ухода Виктора Нико-лаевича для лаборатории началось трудное время. Пеймер уехал в Штаты, а его помощ-ник Алексей Дудкин погиб в горах, и группа малых доз перестала существовать. Стала самостоятельной группа Генриха Андрееви-ча, группа динамического светорассеяния пе-решла в лабораторию Леонида Алексеевича Носкина, Леонид Михайлович Фирсов стал одним из лекторов НОЦ и перебрался на ули-цу Хлопина. В лаборатории оставалась груп-па, занимавшаяся гликопротеинами под ру-ководством Кирилла Николаевича Неустроева,

но в начале 2000-х он выиграл грант РАН на создание новой лаборатории, и таким образом из нашей Лаборатории отпочковалась Лаборатория энзимологии. К сожалению, Кирилл Николаевич в 2004 году погиб в автокатастрофе.

Прежде чем переходить к последнему временному периоду жизни нашей лаборатории, необходимо отметить, что практически на всем протяжении ее существования Владимир Андреевич Назаренко убеждал Виктора Николаевича включить в арсенал методических возможностей ОМРБ методику малоуглового рассеяния нейтронов (МУРН). Но по многим причинам, о которых надо писать отдельно, использование МУРН в структурных исследованиях отделения не складывалось. Правда, я припоминаю, что примерно за полгода до своего ухода Витя как-то сказал, что Назаренко снова предложил ему познакомиться с состоянием структурных исследований в биологии, выполненных с применением МУРН, и дал ему обзор по этой проблеме. Фомичев прочитал и сказал, что не ожидал произошедшего за последние годы в этой области существенного прогресса как в чувствительности метода, так и в возможностях моделирования предполагаемых структур.

В 1999 году, когда я стал замом у Виталия Леонидовича Калинина, В. А. Назаренко вновь предложил обратить внимание на метод МУРН. В то время у нас совместно с лабораторией Владислава Александровича Ланцова велась работа по изучению корреляции функций белка ResA с флуоресценцией его триптофановых и тирозиновых остатков. Для продолжения исследований требовалась информация о структуре белка в растворе. Тогда для решения этой конкретной задачи я и решил использовать метод МУРН. В 2000 году в нашей лаборатории появился Дмитрий Витальевич Лебедев, и в марте 2001 года мы вместе с ним провели первые эксперименты в Дубне на установке малоуглового рассеяния ЮуМО, реактор ИБР-2. Кроме того, в это же время я пытался соблазнить возможностями метода МУРН другие лаборатории ОМРБ. В разговоры и обсуждения возможностей метода охотно вступали многие, но реально использовать его для решения структурных задач решился только Михаил Валентинович Филатов. Именно тогда в совместных обсуждениях появилась идея использовать МУРН для исследования структуры хроматина в составе целого ядра в условиях, близких к нативным.

В настоящее время в ЛБМ работает 19 сотрудников: заведующий лабораторией, два ведущих научных сотрудника, старший научный сотрудник, пять научных сотрудников, пять младших научных сотрудни-

ков, старший лаборант, аспирант и три студента. Из них один доктор и восемь кандидатов физико-математических наук. За 2011–2014 годы сотрудниками ЛБМ опубликовано более полусотни статей в рецензируемых журналах и защищены две кандидатские диссертации. Средний возраст сотрудников – 37 лет.

В ЛБМ в рамках совместных грантов по федеральным целевым программам с Санкт-Петербургским государственным политехническим университетом, Университетом Поля Сабатье (Франция) (ГК № 11.519.11.2002), университетами Говарда и Джорджа Мейсона (США) (совместный грант НИИ и РФФИ № 12-04-91444-НИЗ) ведутся работы по исследованию структуры и динамики хроматина ядер клеток высших, включая человеческие в норме и при онкологии, сложных нуклеопротеидных комплексов, ответственных за гомологичную рекомбинацию ДНК и ремодуляцию структуры хроматина (белки RecA, TIP49A/B), а также фосфатазы-1 (PP1) и комплекса белков CDK9/cyclinT1/Tat человека, участвующих в активации вируса ВИЧ-1 в латентном состоянии. Кроме того, в лаборатории проводятся теоретические и экспериментальные исследования по получению гипертермостабильных вариантов одного из наиболее промышленно важных ферментов – глюкоамилазы из мицелиального гриба *Aspergillus awamori*. Эти исследования проводятся с использованием комплексных подходов, включающих как экспериментальные подходы генной и белковой инженерии, рентгеновского и нейтронного малоуглового рассеяния, нейтронного спин-эхо, атомной силовой микроскопии, конфокальной флуоресцентной микроскопии и другие, так и современные теоретические методы молекулярного моделирования, молекулярной динамики и квантовой химии с использованием высокопроизводительной многопроцессорной вычислительной системы НИЦ «Курчатовский институт». Лаборатория сотрудничает с лабораториями клеточной биологии, биосинтеза белка, молекулярной генетики, генетики эукариот, Институтом гриппа.

Генетический материал высших организмов (например, человека) организован в виде сложного комплекса белков и ДНК, так называемого хроматина. Хроматин, с одной стороны, очень плотно заполняет пространство, предоставленное ядром живой клетки, а с другой – позволяет работать клеточным механизмам синтеза белков и деления клетки. В середине 1970-х годов был открыт структурный элемент хроматина – нуклеосома. В 1997 году структура нуклеосомы стала известна на атомном уровне. Несмотря на многолетнее изучение хроматина, существует тысячекратный разрыв между нуклеосомой (10 нм)

и структурами, наблюдаемыми в оптический микроскоп (10 мкм). В нашей лаборатории с помощью рассеяния нейтронов была получена ценная информация о недостающих звеньях структурной иерархии хроматина [9].

Оказалось, что хроматин является фракталом. Фракталы – это самоподобные структуры с поистине универсальной встречаемостью, от атомных процессов до самой Вселенной, распространенные как в живой (брокколи, бронхи человека), так и в неживой (молния, береговая линия материков) природе. Теперь к этому списку добавился хроматин, из которого состоят ядра наших клеток. Математический анализ полученных данных позволил нам создать трехмерную фрактальную модель хроматина [10], которая поможет объяснить, каким образом работает клеточное ядро.

В проводящихся сейчас в ЛБМ изысканиях мы стремимся выявить основные принципы структурной организации упаковки ДНК (хроматина) в живых клетках и ее изменений при наличии серьезных патологий (рак). Эта работа представляет собой мультидисциплинарное системное исследование, сочетающее полноатомное молекулярное моделирование структуры хроматина на размерах целого генома, экспериментальные исследования иерархии упаковки хроматина в ядрах нормальных и раковых клеток методами МУРН и использование мутантов дрожифилы с измененной периодичностью расположения нуклеосом. Расчеты такого рода были невозможны несколько лет назад, но сегодня их можно осуществить с использованием последних технологических достижений и уникальной методологии, созданной в ЛБМ ПИЯФ и в Виргинском политехническом институте (США).

Важным направлением работы ЛБМ является разработка новых подходов к получению информации о структуре и динамике сложных надмолекулярных комплексов, основанных на использовании методов молекулярно-динамического моделирования, которые позволяют получить полноатомную структуру исследуемых мультимолекулярных комплексов в нативных условиях, и низкоразрешающую экспериментальную методику (малоугловое рассеяние нейтронов и рентгеновских лучей) для верификации предлагаемых моделей. С этой целью в лаборатории разработаны программные утилиты GROMACS для расчета спектров МУРН по полноатомным траекториям молекулярной динамики, позволяющие учитывать при расчете конформационную подвижность макромолекулы. Этот подход был успешно применен для получения полноатомных структур комплексов белка RecX с ДНК и белком [11].

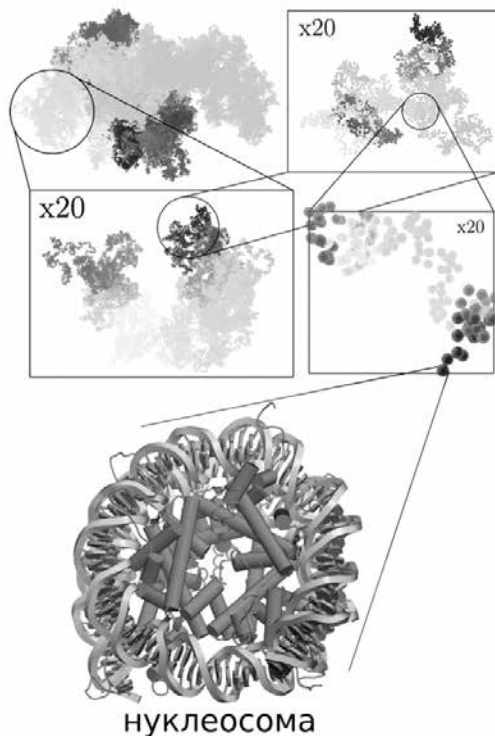


Рис. 3. Демонстрация свойства самоподобия фрактальной структуры хроматина

В нынешнем штате сотрудников ЛБМ остались только два человека, которые вместе с Виктором Николаевичем участвовали в создании лаборатории, – это Вячеслав Анатольевич Рыжов и я. На фоне молодых людей, которые пришли в лабораторию в последние годы, мы напоминаем вымерших динозавров. Но мне нравится работать с нынешними молодыми людьми, которые, так же, как и мы в молодости, увлечены процессом познания. И пока эта увлеченность и любознательность будут присутствовать среди сотрудников лаборатории, можно надеяться на то, что она будет существовать и дальше, оставаясь интерфейсом между физикой и биологией в ОМРБ.

В заключение хотелось бы сказать о том, что с возрастом становишься сентиментальным, и воспоминания о времени, когда мы были молодыми, вызывают сильную грусть, может быть, даже не потому,

что эти годы ушли, а потому, что ушли люди, с которыми связаны эти воспоминания. Нет возможности пообщаться с теми из них, которые олицетворяют то время, с которыми ты был в дружеских отношениях, в приятельских, просто знаком. Ведь в памяти остаются только минуты общения с тем или иным ушедшим человеком. Мне повезло: на протяжении более чем 40 лет я общался с очень интересными людьми, обладающими высоким уровнем профессионализма и богатыми духовно, знающими литературу, живопись, музыку. Вспоминая их всех, перечитываю стихотворение Беллы Ахмадулиной, которым, в сокращенном варианте, и закончу свое писание.

По улице моей который год
звучат шаги – мои друзья уходят.
Друзей моих медлительный уход
той темноте за окнами угоден...

О одиночество, как твой характер крут!
Посверкивая циркулем железным,
как холодно ты замыкаешь круг,
не внемля увереньям бесполезным...

Дай стать на цыпочки в твоём лесу,
на том конце замедленного жеста
найти листву, и поднести к лицу,
и ощутить сиротство, как блаженство.

Даруй мне тишь твоих библиотек,
твоих концертов строгие мотивы,
и – мудрая – я позабуду тех,
кто умерли или доселе живы.

И я познаю мудрость и печаль,
свой тайный смысл доверяю мне предметы.
Природа, прислонясь к моим плечам,
объявит свои детские секреты.

И вот тогда – из слез, из темноты,
из бедного невежества бывшего
друзей моих прекрасные черты
появятся и растворятся снова.

Литература

1. Бреслер С. Е., Саминский Е. М., Казбеков Э. Н. // ЖТФ. 1957. Т. 27. № 11. С. 2535–2553.
2. Бреслер С. Е., Казбеков Э. Н., Фомичев В. Н. // ФТТ. 1963. Т. 5. №. 2. С. 675–682.
3. Бреслер С. Е., Казбеков Э. Н., Фомичев В. Н. // ЖТФ. 1971. Т. 41. № 6. С. 1237–1245.
4. Исаев-Иванов В. В., Лавров В. В., Фомичев В. Н. // Докл. АН СССР. 1976. Т. 229. № 1. С. 70–72.
5. Анисимов Г. К., Завацкий Е. И., Исаев-Иванов В. В., Лавров В. В., Фомичев В. Н. // ЖТФ. 1981. Т. 51. № 5. С. 988–995.
6. Исаев-Иванов В. В., Рыжов В. А., Фомичев В. Н. // ЖЭТФ. 1976. Т. 70. С. 983–991.
7. Бондарев Г. Н., Исаев-Иванов В. В., Исаева-Иванова Л. С., Кириллов С. В., Клейнер А. Р., Лепехин А. Ф., Одинцов В. Б., Фомичев В. Н. // Молек. биол. 1982. Т. 16. №. 2. С. 352–362.
8. Bondarev G.N., Isaev-Ivanov V.V., Isaeva-Ivanova L.S., Kirillov S.V., Kleiner A.R., Lepekhin A.F., Odinzov V.B., Fomichev V.N. // Nucl. Acids. Res. 1982. V. 10. No. 3. P. 1113–1126.
9. Lebedev D.V., Filatov M.V., Kuklin A.I., Islamov A.Kh., Kentzing E., Pantina R., Toperverg B.P., Isaev-Ivanov V.V. // FEBS Lett. 2005. V. 579. Iss. 6. P. 1465–1468.
10. Ilatovskiy A.V., Lebedev D.V., Filatov M.V., Grigoriev M., Petukhov M.G., Isaev-Ivanov V.V. // J. Appl. Phys. 2011. V. 110. P. 102217.
11. Shvetsov A.V., Lebedev D.V., Chervyakova D.B., Bakhlanova I.V., Yung I.A., Radulescu A., Kuklin A.I., Baitin D.M., Isaev-Ivanov V.V. // FEBS Lett. 2014. DOI:10.1016/j.febslet.2014.01.053.

Лаборатория клеточной биологии

М. В. Филатов



Свидетели науки, или Уроки истории клеточной биологии в ПИЯФ

Сам факт, что человек или группа людей проработали в той или иной области науки достаточно долгое время, еще не дает им основания беспелляционно судить о том, что правильно и значимо, а что второстепенно и ложно. Особенно это касается оценок работ, в которых сам автор принимал непосредственное участие и тем самым является лицом небеспристрастным. Эти выводы могут произойти лишь из реальных, востребованных последствий этой деятельности. Однако в любом случае эти люди формируют некую касту свидетелей науки, свидетелей усилий, эмоций, логики, рассуждений, заблуждений, которые составляют непосредственный процесс добычи новых знаний.

Как мне кажется, 40 лет, проведенных в ПИЯФ, позволяют мне со своей стороны дать соответствующие свидетельские показания, которые, возможно, могли бы быть небезынтересны не только для частного случая ПИЯФ и ОМРБ, но в более общем, гносеологическом смысле. Все существующее имеет начало, и часто это начало происходит до нашего появления. Так и в рассматриваемом случае история клеточной

биологии в ПИЯФ началась до моего в ней появления (я опоздал к началу ровно на 10 лет). Основоположниками ее в ПИЯФ были перешедшие из Института физиологии им. И. П. Павлова в Колтушах Олег Вячеславович Малиновский и Татьяна Александровна Шейкина. Мной же начальная часть этой истории может быть изложена лишь в пересказе.

Поводом создания биологического направления в Институте ядерной физики, имевшем место 50 лет назад, была востребованность нашей страной радиобиологии – достаточно прикладного направления, анализирующего действие ионизирующей радиации на биологические объекты разной организации. Интерес был вполне понятен в связи с развитием ядерных вооружений и ядерной энергетики, для которых биологическое действие радиации было главным образом нежелательным осложнением, которое приходилось иметь в виду. Частным результатом такой ситуации явилось создание РБО в составе относительно недавно образованного ПИЯФ. В этом направлении доминирующими являлись физико-химические аспекты, связанные с теорией мишенной радиационного воздействия, особенностями действия излучений с разной плотностью ионизации, с прямым и опосредованным действием радиации, поиском протекторов, позволяющих снизить поражающие эффекты радиационного воздействия. С логикой этого подхода можно познакомиться в классических сводках Д. Е. Ли «Действие радиации на живые клетки» и Ш. Окады «Радиационная биохимия клетки», обрисовывающих идеологию того времени.

Во многом на стадии становления лаборатории биологические объекты с их спецификой, в т. ч. и особенностями их клеточной организации, играли второстепенную роль мишенной для физических и радиохимических, по своей сути, подходов. Роль биологии сводилась к представлению свойственного ей разнообразия объектов для исследования. Безусловно, это была гносеологическая ошибка развития данного направления науки. Время показало, что чисто физические аспекты исследования в этой области довольно быстро себя исчерпали и на сегодня, сделав свое дело, перестали быть самостоятельным направлением в науке, лишь частично ответив на стоящие вызовы. В то же время особенности биологической организации и специфика реагирования различных биообъектов на внешнее воздействие оказались гораздо богаче и разнообразнее и до сих пор являются предметом интенсивных исследований, открывающих новые аспекты взаимодействия биологических систем с внешней средой. Не могу не заметить, что подобная схема междисциплинарного взаимодействия имеет удивительно устойчивую тенденцию воспроизводиться в поколениях исследователей.

При возникновении серьезных биологических задач, требующих участия специалистов разной направленности, физики часто склонны пренебрегать особенностями логики, сформировавшейся в рамках традиции биологических исследований, рассматривая партнеров-биологов в лучшем случае как поставщиков объектов для исследования. Основания для такого подхода, на мой взгляд, заключаются в том, что физику в биологических рассуждениях не хватает математической строгости, притом, что последняя часто практически невозможна ввиду объективной сложности изучаемых объектов. Биологу же часто трудно принять в физических подходах стремление построить модель, сильно упрощающую объект исследования и не учитывающую массу известных и не вполне известных деталей. В итоге получается диалог, который в утрированном физическом подходе, как правило, выглядит следующим образом. «Свершилось чудо! Мы обнаружили, что мир жидется на трех китах», – говорит биолог. На что физик отвечает: «Мне трудно понять, что вы имеете в виду: я не специалист по китам». Нужно признать, что исторически физический подход не без оснований ассоциируется с собственно научным способом мышления. Взять хотя бы приписываемые Резерфорду слова о том, что «науки делятся на физику и собирание марок». Наверное, продуктивный диалог был бы практически невозможен, если бы физики сами по себе не представляли собой не только биологические, но часто и медицинские объекты.

Эти во многом схоластические рассуждения не имели бы особого смысла, если бы сегодня в очередной раз в ПИЯФ не возникала реальная практическая задача оптимизации взаимодействия биологических и физических подходов. Это связано, в частности, с формированием потенциальной программы исследований для реактора ПИК и других серьезных физических установок, возможно, составляющих основу будущей деятельности Института. Так или иначе, почти с самого начала образования РБО в нем, наряду с другими подразделениями, появился сектор (позднее лаборатория) радиационной цитологии. Именно в нем сосредоточились исследования основной структурной и функциональной единицы всего живого, способного к самостоятельному существованию в абиогенной среде – клетке. При этом по понятным причинам основной акцент был сделан на исследованиях клеток человека и высших животных. В это время впервые в нашей стране, в т. ч. и в РБО ПИЯФ, в практику исследований были введены перевиваемые клеточные линии, полученные из злокачественных опухолей онкологических больных, способные к практически безграничному размножению в условиях культивирования в специальных средах. В частности, широкое

распространение как объект исследования получили клетки карциномы шейки матки чернокожей американки Генриетты Лакс (Henrieta Lacks), согласно аббревиатуре – HeLa. Этот объект до сих пор является одним из самых популярных объектов исследования в мире.

Идеологически основа исследований во многом была связана с именем Тимофеева-Ресовского – легендарного биолога, долгое время работавшего в Европе и прямо взаимодействовавшего не только с биофизиками, чьи имена вошли в классическую историю науки, такими как Макс Дельбрюк, но и с такими выдающимися физиками, как Нильс Бор. Создатели направления клеточных исследований в РБО О. В. Малиновский и Т. А. Шейкина были прямыми учениками Николая Владимировича Тимофеева-Ресовского, которому в то время был ограничен въезд в столичные города. Они посещали его на Южном Урале, на биостанции, основанной им на озере Большое Миассово в Ильменском заповеднике, где Николай Владимирович организовывал очень популярные школы по радиобиологии.

Когда я впервые, в 1974 году, студентом пришел в Лабораторию радиационной цитологии, то был озадачен присутствием в ней сразу трех профессиональных математиков, которые пытались моделировать события клеточного цикла и действие ионизирующей радиации на клетки. Будучи в значительной мере продуктом классической цитологической и гистологической университетской школы профессора Алексея Алексеевича Заварзина, я искренне не понимал, как можно математически моделировать такой сложный объект, как клетка. Нужно признать, что не понимаю я этого и сегодня, по прошествии четырех десятков лет, хотя время от времени приходится сталкиваться с подобного рода попытками уверенных в себе коллег из смежных областей. Что же касается попыток построения математических моделей клеточного поведения тех лет, то, насколько я могу судить, они не оставили сколь-либо заметного следа и вскоре были прекращены.

Относительно собственно биологических направлений клеточных исследований в радиобиологии, то они в то время сосредоточились, условно говоря, в трех направлениях: 1) изучение систем репарации ДНК от радиационных и химических повреждений; 2) исследование мутационных изменений генетического материала, включая хромосомные перестройки и 3) анализ форм гибели клеток, вызванных внешними воздействиями. Все направления получили дальнейшее развитие и привели к обнаружению многочисленных новых функциональных особенностей клеточной организации. Стало понятно, что сохранение стабильности генетического материала – это активный процесс, вклю-

чающий различные ферментативные системы репарации, органически сопряженные с многоуровневой функциональной организацией генетического материала. В каком-то смысле это направление оппонировало известной формулировке Эрвина Шредингера, утверждавшего, что в основе организации живых организмов лежит аperiодический кристалл. Это не вполне точное высказывание в том отношении, что стабильность кристалла обеспечивается самой по себе физико-химической его природой. Кристалл, в определенном смысле, – символ высокостабильной структуры. Напротив, стабильность молекул ДНК, составляющих основу генетического материала в условиях функционирующей клетки, не слишком высока. Клетка человека, как правило, копирует свой генетический материал не чаще чем раз в сутки. При этом она обязана копировать его точно, иначе хранящаяся в нем генетическая информация будет стираться. Измерения же показывают, что за это время в ДНК одной клетки по разным причинам возникает не менее 10 тысяч химических нарушений, требующих активного восстановления (репарации). Какой уж тут кристалл – сплошная затрата энергии на работу по восстановлению и активному поддержанию структуры наследственного материала.

Клеточными биологами нашего отдела, разжалованными до уровня группы, попеременно входившей в состав различных лабораторий и получившей неформальное наименование «летающая тарелка», была в это время выполнена серия работ, в результате которых стало возможно регистрировать спонтанно возникающий уровень нарушений в клеточной ДНК и оценивать потенциальные последствия отмены их восстановления [1–4].

Эти работы получили поддержку Семена Ефимовича Бреслера, автора первого учебника по молекулярной биологии в СССР и фактического основоположника молекулярно-биологических исследований в ЛИЯФ. Широта и глубина взглядов без особого труда позволили ему оценить значимость этих работ в области клеточной биологии и внести в них свой вклад. Дискуссии по поводу статей на эту тему оказались весьма полезны и интересны для меня в то время. Дальнейшее развитие исследований систем репарации ДНК вывело их далеко за рамки проблемы поддержания целостности ДНК. Оказалось, что перестройки ДНК связаны не только с событиями, которые можно считать повреждающими для клеток. Так, амплификация (увеличение числа копий) определенных фрагментов ДНК может лежать в основе устойчивости раковых клеток к ядам, которые используются для лечения онкологических заболеваний. Обнаружение того, что некоторые фрагменты ДНК

могут менять локализацию в геноме, открыло целый мир относительно автономных мобильных генетических элементов, с разной скоростью блуждающих по геному. Оказалось, что образование колоссального разнообразия антител и Т-клеточных рецепторов, лежащих в основе адаптивного иммунитета высших животных, основано на перестройке соответствующих генов, требующих использования возможностей некоторых систем репарации ДНК. Нет особых сомнений в том, что продолжение этих работ может открыть еще не одну новую страницу в организации клеток.

Особо любопытной и поучительной является судьба направления, изучающего механизмы гибели клеток под воздействием ионизирующих излучений. Это направление активно развивалось в Лаборатории радиационной цитологии во второй половине 70-х годов главным образом усилиями группы клеточных культур, составленной Татьяной Александровной Шейкиной и ее сотрудниками. В зависимости от характеристик и дозы поражающего воздействия были описаны различные формы гибели клеток, такие как митотическая, репродуктивная гибель – образование гигантских полиплоидных клеток, синтезирующих ДНК без сопутствующего деления; интерфазная гибель клеток – особая форма запрограммированной гибели клеток лимфоцитов. Направление это не пользовалось особой популярностью у коллег по РБО, отдающих выраженное предпочтение физико-химическим и генетическим направлениям исследования, не без основания входивших в моду в то время. Мало кого интересовали целостные живые объекты, которые ввиду их сложности трудно поверять не только алгеброй, но и физикой.

Начали абсолютно доминировать аналитические подходы, сопряженные с расчленением биологических объектов, в результате чего был расчленен и существовавший биологический отдел, из которого как незначительные и второстепенные были выброшены лаборатории, связанные с исследованиями на организменном и клеточном уровнях. Долгое время в биологическом отделе ПИЯФ, который был переименован в ОМРБ, не было специальной лаборатории, изучавшей особенности организации живого на уровне клетки. Это не означает, что из практики отдела полностью исчезли соответствующие работы. Оставшиеся сотрудники, разбросанные по разным лабораториям, продолжали свои исследования, подтверждая, что никакие субъективные предпочтения не могут остановить работы, если они связаны с объективно важными направлениями исследования.

Сегодня клеточная биология – это, безусловно, одно из доминирующих направлений исследований в мире. По количеству публикаций,

разнообразие направлений, рейтингу соответствующих журналов, количеству практических приложений сегодня не существует сопоставимого направления. В общественном научном сознании доминанта молекулярной биологии и генетики меняется на представления о необходимости системного биологического подхода, который сводится к ответу на вопросы, как работают сложные мультимолекулярные системы, составляющие клетку, и как работают сложные тканевые и организменные системы, составленные клетками. Что же касается местечковых временных увлечений, то они имеют тенденцию рассыпаться, даже если они были подкреплены на каком-то этапе определенным административным ресурсом. Во всяком случае, сегодня основные публикации многих активных реорганизаторов ОМРБ того времени носят почти исключительно мемуарный характер.

Что касается исследований в области форм гибели клеток, то они получили серьезное развитие. Оказалось, что во многих случаях гибель клеток носит не механистический разрушительный характер, а происходит благодаря запуску врожденно присущей клетке программы самоуничтожения, основанной на последовательной активации протеаз, получивших наименование каспаз. Именно таким самоубийственным способом, получившим наименование апоптоза, гибнут лишние клетки в процессе развития или излишние клетки в ходе функционирования иммунной системы и других тканевых систем.

Это направление настолько вошло в моду, что стало казаться – способ гибели клеток всегда однотипен. Однако, как это почти всегда бывает в биологических исследованиях, вскоре выяснилось, что ситуация значительно сложнее. Сначала обнаружилось, что виды апоптоза могут существенно различаться между собой, потом – что некоторые формы гибели совершенно не укладываются в изначальные представления о нем, и приходилось обозначать их другими терминами, например «некротическая гибель». Постепенно представления о формах гибели клеток стали расширяться, и сегодня я с удивлением обнаруживаю, что старые представления об этом явлении, которыми Лаборатория радиационной цитологии увлекалась в 70-х годах, снова становятся интересны и востребованы. Важным уроком этой истории о гибели клеток, на мой взгляд, является некое философское заключение, что все происходящее с живыми системами, даже их гибель, протекает активно с их стороны, а не является прямым следствием физико-химических процессов.

Постепенно радиобиологическое направление, ради которого формировался РБО, будучи по существу частной прикладной задачей

в 80-х годах, во многом исчерпало себя. При этом развитие лабораторий различной методической направленности перестало быть объединено общей понятной целью. В результате сложился довольно гетерогенный отдел, состоящий из около десятка лабораторий, которые развивались достаточно независимо, при этом конкурируя за ограниченные ресурсы. Сложилась ситуация, которая, с одной стороны, побуждала к межлабораторному сотрудничеству, что могло бы способствовать повышению качества проводимых работ в тех случаях, когда лабораториям удавалось найти общую идеологию. С другой стороны, возникала естественная «феодалная» разобщенность, связанная с необходимостью поддерживать собственное лабораторное хозяйство в условиях недостатка в оборудовании и реагентах. Во многом эта особенность ОМРБ сохраняется и до сих пор. Поскольку в тот момент клеточная биология не была представлена самостоятельной лабораторией, в ее развитии были определенные трудности. Даже когда результаты работы клеточного направления приносили отделу значительное, беспрецедентное по тем временам, финансирование, оно, увы, направлялось на другие цели, представлявшие важными и модными в условиях доминировавшей тогда конъюнктуры.

В 1978 году впервые появились статьи о создании проточной цитометрии – техники, позволявшей с высокой производительностью получать характеристики большого количества индивидуальных клеток. Уже в 1979 году самодельные проточные цитометры были созданы в нашем отделе усилиями работавших в области клеточных исследований сотрудников с яркими инженерными способностями, такими как Александр Николаевич Третьяков, Виктор Александрович Соловьев и несколько позднее присоединившихся к ним Сергеем Ивановичем Степановым и Евгением Александровичем Дробченко. Активная работа клеточных биологов, ставивших оригинальные задачи инженерам-разработчикам, позволила быстро прогрессировать в получении оригинальных данных о клеточной и хромосомной организации, некоторые из которых представляются существенными и не до конца оцененными и сегодня [5–15].

Идеологическая и методологическая важность этого направления сводилась прежде всего к тому, что она позволила дополнить биохимические исследования, которые всегда проводились на больших количествах разрушенных клеток и таким образом давали лишь оценку «средней температуры по больнице», информацией о распределении тех или иных регистрируемых характеристик среди больших количеств индивидуальных клеток и хромосом. Нужно отметить, что и сегодня по-

лучение новых возможностей поклеточного анализа различных свойств каждый раз представляет собой значимое событие.

Такого рода возможности быстро нашли практические применения, в частности в получении значимых для медицины данных, – сегодня они составляют основу ряда рутинных медицинских анализов. Оперативное появление в СССР этой новой техники не осталось незамеченным, и благодаря неординарным организационным способностям некоторых научных сотрудников ОМРБ, прежде всего Леонида Алексеевича Носкина, это направление получило баснословную по тем временам финансовую поддержку – около миллиона долларов. Такая финансовая подпитка позволила во второй половине 80-х годов существенно повысить оснащение биологического отдела. Единственное, что не позволяет мне вспоминать это событие с радостью, это то, что в развитие собственно приборной базы цитометрических исследований не было вложено ничего. В результате мы до 2012 года, т. е. до времени, когда не только большинство институтов и клиник, но даже многие поликлиники имели качественные коммерческие проточные цитометры, вынуждены были работать на стареньких самодельных приборах, изготовленных энтузиастами в то время. За это им отдельное спасибо! Эта доморощенная техника, хотя ее и не удалось внедрить в широкую российскую практику, позволила нам выполнить ряд оригинальных работ, описавших некоторые новые явления, значение которых, как мне кажется, еще будет оценено.

Нужно отметить, что возможность самостоятельного создания оригинальной приборной базы всегда была сильной чертой ОМРБ. В тех случаях, когда возникала достойная задача, интересная не только с биологической точки зрения, но и с технической, часто находились технически грамотные и умелые исследователи, которые создавали оригинальные штучные модели приборов. Так, Александром Васильевичем Суловым, работавшим под руководством Леонида Алексеевича Носкина, был создан ротационный эластовискозиметр, дающий возможность прямо измерять гидродинамический радиус огромных молекул ДНК, составляющих основу хромосом человека, и наблюдать процесс их деградации и восстановления. Используя этот подход, удалось зарегистрировать накопление повреждений ДНК при естественном процессе старения человека.

Так или иначе, признание существенной роли клеточной биологии в ОМРБ постепенно нарастало, и к концу 80-х годов в составе Отделения вновь появилась полноценная лаборатория, занимавшаяся исследованиями принципов организации и функционирования клеток челове-

ка и высших животных, получившая название Лаборатории клеточной биологии. Ее восстановление совпало с окончанием относительно спокойного периода развития российской науки в 90-х годах. Практически одновременно прекратилось ее сколь-либо заметное финансирование, и появилась возможность уехать в другие страны, чтобы заниматься наукой в более комфортных условиях. Это довольно быстро привело к значительному снижению числа сотрудников, активно занимавшихся хоть какими-то значимыми исследованиями. Если в 80-х годах практически в любое время суток можно было обнаружить активную жизнь на любом из четырех этажей здания ОМРБ, то с тех пор такого не наблюдается, в значительной мере нарушилась и эмоциональная атмосфера общей настроенности на безусловную ценность научных занятий. Невостребованность академической науки в своей стране побуждала ученых искать дополнительные мотивации и возможности. Если этого удавалось достичь, то, как правило, через налаживание связей с зарубежными исследователями либо через обращение к решению практических нужд других отраслей человеческой деятельности.

Оказалось, что пассионарный дух совсем не чужд заметной части нашего научного сообщества. В ОМРБ разные лаборатории нашли свои фирменные способы получить возможность продолжать заниматься наукой в условиях, когда государство и его научные институты стали явным образом нарушать трудовое законодательство, лишая научных сотрудников права на получение орудий и средств производства. Хочется думать, что постепенно эта ситуация начинает выправляться, хотя сегодня это еще нельзя назвать очевидным. В этой ситуации Лаборатория клеточной биологии вынуждена была обратиться к прикладным исследованиям в области медицины. Довольно быстро выяснилось, что, с одной стороны, нам есть что приложить, а с другой – что российское медицинское сообщество далеко не всегда готово к такому вторжению в область их ответственности. Требуются значительные усилия, чтобы обосновать свое право на серьезное партнерство с медиками. Трудность заключается еще и в том, что усилия эти, что называется, не авторизованы, совершенно не ясен их правовой статус. Тем не менее с середины 90-х годов Лаборатория клеточной биологии накапливала непростой опыт работы в области медицинских исследований, ориентированных на конкретные практические приложения.

За это время мне стало очевидно, что обычные для академической науки рассуждения о делении на фундаментальные и прикладные исследования в медицине неприемлемы. Либо ваши работы прикладные, либо они недоделанные, остальное – лукавство. В общем, как-то стало

понятно, что занятия чисто академической наукой для современного российского общества скорее роскошь. Сколько ни приводятся аргументы о том, что на длинной дистанции нет ничего более рентабельного и выгодного для человечества, чем наука, каждый раз, когда возникает вопрос о материальной поддержке конкретных проектов и направлений, общество и его институты требуют обещаний непосредственной и немедленной практической пользы. Тем самым исследователи провоцируются к неоправданным посулам. Неизбежное разочарование во множестве конкретных частных случаев может сильно подорвать доверие к науке как целому.

От серьезных людей, долгое время возглавлявших институты, занимавшихся проблемами онкологии, мне приходилось слышать язвительно парадоксальное мнение, что если бы все диссертационные работы по онкологии, которые обещают обеспечить продление жизни пациентов на несколько процентов, были верны, то больные жили бы заметно дольше, чем здоровые. Боюсь, что человеческое общество не настолько дальновидно, чтобы в момент распределения ограниченных средств рассматривать такие парадоксы как шутку. Поэтому, видимо, более правильной и оптимально работающей была бы рутинная схема организации науки, в которой реальные потребности практики востребовали бы прикладную науку, а та, в свою очередь, породила бы базовую фундаментальную науку высших достижений. Если же последняя на каком-то этапе, как это не раз бывало в истории, превзойдет ожидания и совершит революционные прорывы, то вряд ли кого-то это огорчит. Но так может быть далеко не всегда. Увы, разговоров о фундаментальности науки среди моих коллег в ПИЯФ я слышал радикально больше, чем встречал реальных достижений, которые могли бы претендовать быть так поименованными.

Используя опыт и навыки исследовательской работы Лаборатории клеточной биологии, удалось создать вариант методологии иммунотерапии на основе дендритных клеток и активированных лимфоцитов, который, как показало многолетнее сотрудничество с рядом медицинских исследовательских организаций, может быть весьма полезен в терапии онкологических заболеваний, гепатита С, герпетических и папилломных вирусных инфекций, устойчивых к лекарственной терапии бактериальных и грибковых инфекций, коррекции аллергических и аутоиммунных заболеваний и даже такой нозологии, как синдром хронической усталости [16–27].

Практические работы в области онкологии неизбежно наводят на размышления о механизмах быстрой адаптации опухолей к раз-

личным условиям роста и терапевтическим воздействиям. Эти приспособления не могут возникать только путем случайной мутационной изменчивости. Напрашивается идея, что здесь, вероятно, играют существенную роль аномалии экспрессии генов, и, соответственно, механизмы эпигенетической регуляции включения и выключения генов могут быть основой действия новых противоопухолевых препаратов. Мы начали серию исследований в этом направлении, и уже удалось в последнее время получить ряд любопытных результатов [28–32].

В тесном сотрудничестве с Лабораторией медицинской биофизики, много лет разрабатывающей приложение методологии динамического светорассеяния для медицинских целей, были созданы оригинальные диагностические подходы на основе детального анализа иммунных комплексов и экзосом (нанометрового размера частиц, секретируемых клетками различных тканей) в биологических жидкостях. Информативность предлагаемых методов значительно превосходит многие диагностикумы, используемые сегодня в практической медицине.

Одним из первых в мире нам удалось нагружать экзосомные частицы интерференционной РНК, превращая их в естественные носители этих регуляторных молекул. Используя этот подход, оказалось возможно направленно выключать определенные гены в опухолевых клетках, вызывая их гибель при сохранности нормальных клеток [33].

Отдельное направление исследований возникло в сотрудничестве с Лабораторией биофизики макромолекул, возглавляемой Владимиром Васильевичем Исаевым-Ивановым. Речь идет об изучении принципов организации ядер клеток млекопитающих с использованием малоуглового рассеяния нейтронов, атомной силовой микроскопии и прижизненного наблюдения особенностей организации и функционирования клеточных ядер конфокальной флуоресцентной микроскопией. Был обнаружен целый ряд новых особенностей организации хроматина, дающих возможность более глубокого понимания организации генетического материала клетки [34–43]. Десятки новых идей и практических заделов волнуют сегодня Лабораторию клеточной биологии, пополняющуюся молодыми энергичными сотрудниками, настроенными на сочетание глубоких научных изысканий основ организации клетки с практическим приложением получаемых результатов.

На мой несторонний взгляд, основные организационные препятствия развития науки на сегодняшний день заключаются не в отсутствии достаточного финансирования, а в отсутствии внятной постановки задач, за решение которых государство или бизнес готовы были бы платить адекватную цену. То есть главное – это отсутствие заказов

на научные исследования. Практически это выражается в том, что нынешние руководители, как правило, не в состоянии целенаправленно использовать руководимые ими коллективы для решения актуальных задач, а вынуждены заниматься косметическими, конъюнктурными задачами сохранения возглавляемых ими подразделений.

Литература

1. *Filatov M.V., Noskin L.A.* Sensitization of Human Cells by Inhibitors of DNA Synthesis Following the Action of DNA-Damaging Agents // *Mutat. Res.* 1983. V. 110. No. 2. P. 393–399.
2. *Filatov M.V., Pantina R.A., Noskin L.A.* Methods for Registration of Spontaneous DNA Instability in Mammalian Cells // *Mutat. Res.* 1998. V. 403. No. 1–2. P. 95–101.
3. *Бреслер С. Е., Давиденкова Е. Ф., Филатов М. В., Шварц Е. И., Носкин Л. А., Третьяков А. Н., Гексадзе Х. А.* Определение уровня спонтанных повреждений ДНК клеток человека и млекопитающих // *Радиобиология.* 1984. Т. 24. Вып. 3. С. 291–295.
4. *Филатов М. В., Шейкина Т. А.* Новый метод исследования кинетики эксцизионной репарации повреждений ДНК в клетках млекопитающих // *Цитология.* 1984. Т. 26. № 4. С. 450–457.
5. *Filatov M.V., Semenova E.V., Vorob'eva O.A., Leont'eva O.A., Drobchenko E.A.* Relationship between Abnormal Sperm Chromatin Packing and IVF Results // *Mol. Hum. Reprod.* 1999. V. 5. No. 9. P. 825–830.
6. *Semenova E.V., Filatov M.V.* Study of Chromatin Decondensation Factors in Human Spermatozooids by Flow Cytometry // *Russ. J. Dev. Biol.* 2010. V. 42. Iss. 1. P. 16–24.
7. *Семенова Е. В., Филатов М. В.* Исследование факторов деконденсации хроматина сперматозоидов человека с помощью техники проточной цитометрии // *Онтогенез.* 2011. С. 20–29.
8. *Воробьева О. А., Филатов М. В., Леонтьева О. А., Семенова Е. В.* Влияние аномальной организации хроматина сперматозоидов на развитие эмбрионов человека // *Проблемы репродукции.* 1998. № 1. С. 14.
9. *Варфоломеева Е. Ю., Иванов Е. И., Дробченко Е. А., Семенова Е. В., Филатов М. В.* Регистрация воспалительных процессов при различных заболеваниях методом проточной цитофлуориметрии // *Бюлл. экспер. биол. и мед.* 2010. Т. 149. № 4. С. 471–475.
10. *Filatov M.V., Varfolomeeva E.Yu., Ivanov E.I.* Flow Cytofluorometric Detection of Inflammatory Processes by Measuring Respiratory Burst Reaction of Peripheral Blood Neutrophils // *Biochem. Mol. Med.* 1995. V. 55. P. 116–121.
11. *Filatov M.V., Varfolomeeva E.Yu.* Active Dissociation of Hoechst 33342 from DNA in Living Mammalian Cells // *Mutat. Res.* 1995. V. 327. No. 1–2. P. 209–215.
12. *Naryzhny S.N., Levina V.V., Varfolomeeva E.Yu., Drobchenko E.A., Filatov M.V.* Active Dissociation of the Fluorescent Dye Hoechst 33342 from DNA in a Living Cell: Who Could Do It? // *Electrophoresis.* 1999. V. 20. No. 4–5. P. 1033–1038.

13. Левина В. В., Варфоломеева Е. И., Дробченко Е. А., Третьяков А. Н., Клопов Н. В., Филатов М. В. Очистка ДНК от нековалентно связывающих агентов в клетках млекопитающих как новый механизм устойчивости к лекарствам // Цитология. 1998. Т. 40. № 10. С. 895–899.

14. Степанов С. И., Семенова Е. В., Носкин Л. А., Дробченко Е. А., Филатов М. В. Поклеточный проточнотитометрический анализ хромосом // Цитология. 1989. Т. 31. № 4. С. 410–418.

15. Филатов М. В., Котлованова Л. В., Степанов С. И., Третьяков А. Н., Стрельцов П. Г. Воспроизводимая хромосомная нестабильность перевиваемой клеточной линии китайского хомячка, выявляемая с помощью проточной цитометрии // Цитология. 1988. Т. 30. № 8. С. 999–1007.

16. Олюшин В. Е., Филатов М. В., Улитин А. Ю., Бажанов С. П. Специфическая противоопухолевая иммунотерапия на основе дендритных клеток в комплексном лечении больных злокачественными церебральными глиомами. СПб., 2012. 215 с.

17. Карякин Н. Н., Медяник И. А., Дыдыкин А. В., Бабаев А. А., Новиков В. В., Филатов М. В. Некоторые результаты использования фотодинамической терапии и иммунотерапии в комплексном лечении больных злокачественными опухолями головного мозга // Росс. нейрохир. жур. 2013. Т. 5. № 1. С. 5–11.

18. Острейко О. В., Олюшин В. Е., Тиглиев Г. С., Шевченко Е. Н., Пантина Р. А., Качурина Н. М., Филатов М. В. Противоопухолевая иммунотерапия у больных с продолжительным ростом глиобластом: оценка результатов лечения // Нейрохирургия. 2003. Т. 4. С. 40–44.

19. Бажанов С. П., Олюшин В. Е., Филатов М. В., Улитин А. Ю. Применение специфической противоопухолевой вакцины на основе аутологичных дендритных клеток в комплексном лечении больных со злокачественными полушарными глиомами // Бюлл. сиб. мед. 2008. № 5. С. 46–50.

20. Острейко О. В., Можжаев С. В., Олюшин В. Е., Пантина Р. А., Филатов М. В. Индивидуальные различия способности клеток опухолей головного мозга связывать иммуноглобулины класса G // Мед. иммунол. 2008. Т. 10. № 6. С. 593–596.

21. Олюшин В. Е., Бажанов С. П., Улитин А. Ю., Филатов М. В. Отдаленные результаты применения специфической противоопухолевой вакцины в комплексном лечении больных со злокачественными глиомами супратенториальной локализации // Росс. нейрохир. жур. 2009. Т. 1. № 2. С. 58–64.

22. Tarasov V.A., Filatov M.V., Kisliakova T.V., Noskov F.S., Koloskov A.V., Stavrovietski V.V., Onikienko S.B., Kletchikov V.Z., Lvov I.V., Varfolomeeva E.Yu., Blizniukov O.P., Levina V.V., Kiselevski M.V. Combined Surgical and Immunotherapeutic Treatment of Patients with Fourth Stage Colon Cancer // Hybridoma. 1999. V. 18. Iss. 1. P. 99–102.

23. Композиция для лечения гепатита С и способ лечения гепатита С: пат. РФ на изобретение № 2447899 / М. В. Филатов; заявка № 2010121252; приоритет от 27.05.2010.

24. Способ лечения злокачественных опухолей головного мозга: пат. РФ на изобретение № 2192263 / Г. С. Тиглиев, В. Е. Олюшин, О. В. Острейко, М. В. Филатов, Е. И. Иванов; заявка № 2000122041/14(023265) от 17.08.2000.

25. Способ подбора цитотоксического препарата для химиотерапии при лечении злокачественных опухолей головного мозга: пат. РФ № 2313786 / В. Е. Олюшин, М. В. Филатов, А. А. Петров, И. П. Муравьев, Р. А. Пантина; приоритет от 19.04.2006.

26. Способ отбора нейроонкологических больных для иммунотерапии: пат. РФ № 2297632 / О. В. Острейко, В. Е. Олюшин, С. В. Можаяев, Р. А. Пантина, М. В. Филатов; приоритет от 23.06.2005.

27. Спосіб ранньої диференційної діагностики доброякісних та злоякісних новоутворень шийки матки (Способ ранней дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных новообразований шейки матки): пат. Украины № 62535 / В. М. Запорожан, М. В. Филатов, В. Г. Марічерета, Д. Ю. Андронов, Н. В. Мещерякова, Л. И. Димчева; бюл. № 16; приоритет от 25.08.2011.

28. Ланда С. Б., Филатов М. В., Арутюнян А. В., Варфоломеева Е. Ю. Изучение мегамолекулярных комплексов плазмы с помощью лазерной корреляционной спектроскопии // Клин. лаб. диагн. 2008. Т. 4. С. 37–41.

29. Ланда С. Б., Филатов М. В., Арутюнян А. В. Исследование экзосом, секретлируемых различными нормальными и злокачественно трансформированными клетками *in vitro* и *in vivo* // Креатив. хир. и онкол. 2010. № 4. С. 79–82.

30. Филатов М. В., Ланда С. Б., Пантина Р. А., Гармай Ю. П. Исследование экзосом, секретлируемых различными нормальными и злокачественно трансформированными клетками *in vitro* и *in vivo* // Клин. лаб. диагн. 2010. Т. 12. С. 35–42.

31. Филатов М. В., Ланда С. Б., Штам Т. А., Ковалев Р. А. Анализ экзосом из клеточных культур и биологических жидкостей человека *in vivo* и *in vitro* в норме и при патологических процессах // Клин.-лаб. конс. 2011. № 3 (39). С. 44–53.

32. Shtam T.A., Naryzhny S.N., Landa S.B., Burdakov V.S., Artamonova T.O., Filatov M.V. Purification and *in vitro* Analysis of Exosomes Secreted by Malignantly Transformed Human Cells // Cell Tissue Biol. 2012. V. 6. Iss. 4. P. 317–325.

33. Shtam T.A., Kovalev R.A., Varfolomeeva E.Yu., Makarov E.M., Kil Yu.V., Filatov M.V. Exosomes are Natural Carriers of Exogenous siRNA to Human Cells *in vitro* // Commun. Signaling. 2013. V. 11. No. 88. P. 1–10.

34. Platovskiy A.V., Lebedev D.V., Filatov M.V., Grigoriev M., Petukhov M.G., Isaev-Ivanov V.V. Modeling and Small-Angle Neutron Scattering Spectra of Chromatin Supernucleosomal Structures at Genome Scale // J. Appl. Phys. 2011. V. 110. Iss. 10. P. 102217.

35. Isaev-Ivanov V.V., Lebedev D.V., Lauter H., Pantina R.A., Kuklin A.I., Islamov A.Kh., Filatov M.V. Comparative Analysis of the Nucleosome Structure of Cell Nuclei by Small-Angle Neutron Scattering // Phys. Solid State. 2010. V. 52. Iss. 5. P. 1063–1073.

36. Lebedev D.V., Filatov M.V., Kuklin A.I., Islamov A.Kh., Kentzinger E., Pantina R., Toperverg B.P., Isaev-Ivanov V.V. Fractal Nature of Chromatin Organization in Interphase Chicken Erythrocyte Nuclei: DNA Structure Exhibits Biphasic Fractal Properties // FEBS Lett. 2005. V. 579. Iss. 6. P. 1465–1468.

37. Lebedev D.V., Filatov M.V., Kuklin A.I., Islamov A.Kh., Stellbrink J., Pantina R.A., Denisov Yu.Yu., Toperverg B.P., Isaev-Ivanov V.V. Structural Hierarchy of Chromatin in Chicken Erythrocyte Nuclei Based on Small-Angle Neutron Scattering:

Fractal Nature of the Large-Scale Chromatin Organization // Cryst. Rep. 2008. V. 53. Iss. 1. P. 110–111.

38. Лебедев Д. В., Филатов М. В., Куклин А. И., Исламов А. Х., Штеллбринк И., Пантина Р. А., Денисов Ю. Ю., Топерверг Б. П., Исаев-Иванов В. В. Структурная иерархия хроматина ядер эритроцитов курицы по данным малоуглового рассеяния нейтронов: фрактальная природа высших порядков упаковки хроматина // Кристаллография. 2008. Т. 53. № 1. С. 197–202.

39. Исаев-Иванов В., Лебедев Д., Лаутер Х., Пантина Р., Куклин А., Исламов А., Филатов М. Сравнительный анализ нуклеосомной структуры клеточных ядер – малоугловое нейтронное рассеяние // ФТТ. 2010. Т. 52. Вып. 5. С. 996–1005.

40. Илатовский А. В., Лебедев Д. В., Филатов М. В., Петухов М. Г., Исаев-Иванов В. В. Современные представления об организации хроматина // Цитология. 2012. Т. 54. № 4. С. 298–306.

41. Бабкина Л. А., Гармай Ю. П., Лебедев Д. В., Пантина Р. А., Филатов М. В., Исаев-Иванов В. В. Использование моментов Цернике при анализе изображений // Сиб. журн. вычисл. мат. 2013. Т. 16. № 2. С. 147–163.

42. Babkina L.A., Garmai Yu.P., Lebedev D.V., Pantina R.A., Filatov M.V., Isaev-Ivanov V.V. Using Zernike Moments for Analysis of Images // Numer. Anal. Appl. 2013. V. 6. Iss. 2. P. 131–144.

43. Yung I.A., Lebedev D.V., Filatov M.V., Isaev-Ivanov V.V. Confocal Microscopy Measurements of the Distance Distribution Functions for the Replication Origins in Human HeLa and Glyoma Cells // J. Surf. Invest. X-ray, Synchr. and Neutr. Techn. 2013. V. 7. Iss. 6. P. 1137–1142.

Лаборатория молекулярной генетики

В. Н. Вербенко



Лаборатория молекулярной генетики (ЛМГ) была создана в 1986 году с целью объединения усилий различных по научным интересам групп для внедрения новейших методов молекулярной генетики в практику биологического эксперимента. Возглавил лабораторию и определил ее развитие профессор, доктор биологических наук Владислав Александрович Ланцов. Основные задачи ЛМГ были сформулированы как изучение молекулярных механизмов генетической рекомбинации ДНК у про- и эукариот.

Лаборатория установила тесное сотрудничество с такими зарубежными научными центрами, как Калифорнийский университет в Беркли (Prof. Alvin J. Clark), Хельсинский университет (Dr. Peter Engelgardt), Висконсинский университет в Мадисоне (Prof. William R. Reznikoff и Prof. Michael M. Cox), Лаборатория энзимологии CRNS, Франция (Prof. Raymond Devoret), Университет г. Осака (Prof. Hideuki Ogawa, Prof. Tomoko Ogawa и Prof. Seiki Kuramitsu) и Национальные институты здоровья США (Dr. Alex Strunnikov).

С началом грантовой системы в нашей стране и для нее за рубежом ЛМГ активно включилась в конкурс проектов, результатом чего было получение многолетних российских («Геном человека»), РФФИ, Прези-

диум РАН) и международных грантов (Howard Huges Medical Institute, США; Monbusho International Grant Support, Япония; Intas, Европа и FIRCA, США), которые позволили лаборатории сохранить активные позиции в науке.

В 2010 году объединились Лаборатория молекулярной генетики и группа индуцибельных систем клетки, и научная программа дополнилась исследованиями механизмов гиперустойчивости микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды. В настоящее время лабораторию возглавляет доктор биологических наук Валерий Николаевич Вербенко.

В ОМРБ ПИЯФ лаборатория тесно сотрудничает с лабораториями биофизики макромолекул, клеточной биологии и генетики эукариот. Сотрудники лаборатории также работали и преподавали в научно-образовательном центре «Биофизика» (с 2015 года Лаборатория молекулярной и клеточной биофизики ПИЯФ при Санкт-Петербургском государственном политехническом университете – СПбГПУ), организованном ПИЯФ и СПбГПУ.

ЛМГ развивает как фундаментальные, так и прикладные исследования по следующим направлениям:

- механизмы гиперрекомбинации, взаимодействия белков RecA, RecX и DinI в процессе рекомбинации (Д. М. Байтин, И. В. Бахланова, Д. Б. Червякова и А. В. Дудкина);
- рекомбиногенные и антирекомбиногенные функции при репарации ДНК у микроорганизмов (В. Н. Вербенко, Л. В. Кузнецова, Е. П. Гулевич, Л. А. Лучкина и Л. В. Юрченко);
- разработка комплексного метода с использованием генетических и белковых маркеров для неинвазивной диагностики злокачественных новообразований толстой кишки на клинических образцах (О. А. Вострюхина, Г. М. Бутрович, Ю. А. Романова и Е. Д. Мирлина);
- онкомодулирующее действие цитомегаловирусных инфекций (Г. Р. Виноградская);
- сайт-направленный мутагенез у микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii* с использованием цинк-пальцевых нуклеаз на примере генов *CHR1*, *CHR2*, *COP1*; белки рекомбинации RAD51 и RAD51C хламидомонады (И. А. Сизова и В. И. Шалгуев);
- термостабильные ДНК-связывающие белки из гипертермофильной археобактерии *Desulfurococcus amylolyticus* (Ю. В. Киль);
- микроорганизмы, актуальные для биоремедиации; разработка методов нетермической стерилизации (А. В. Суслов, Б. Ф. Яровой, И. Н. Сулова, В. П. Степанова и Е. А. Суханова);
- действие NO-производных на клеточный цикл (Л. В. Коневега).

Выдающиеся ученые Лаборатории молекулярной генетики и группы индуцибельных систем клетки

Владислав Александрович Ланцов окончил ЛПИ в 1961 году, с 1968 года – кандидат биологических наук, с 1982 года – доктор биологических наук, с 1992 года – профессор. Им опубликовано 90 научных работ.

В. А. Ланцов прошел путь от старшего лаборанта, младшего научного сотрудника и старшего научного сотрудника лаборатории биополимеров ИВС АН СССР, а затем ЛИЯФ АН СССР до заведующего Лабораторией молекулярной генетики ОМРБ ПИЯФ, руководителя учебно-научного центра СПбГПУ–ПИЯФ «Биофизика» и заведующего кафедрой биофизики СПбГПУ. Владислав Александрович был признанным авторитетом в области молекулярных основ генетической рекомбинации.



В. А. Ланцов
(16.10.1938–20.06.2008)

Основными направлениями его научной деятельности были: молекулярный механизм генетической рекомбинации; механизмы транспозиции и эксцизии составных транспозонов у прокариот; структурно-функциональный анализ центрального рекомбинационного белка RecA и его аналогов в трех царствах живого (Bacteria, Archaea и Eukarya); молекулярные основы формирования белковой структуры; генетический контроль канцерогенеза; диагностика опасных бактериальных и вирусных инфекций. В результате проводимых исследований были определены приемы моделирования рекомбинации у бактерий; выявлен генетический контроль гипо- и гиперрекомбинационных событий; показано, что заменой отдельных аминокислот в белке RecA можно направленно варьировать его агрессивность; клонированы, секвенированы и описаны свойства представителей RecA-подобных белков из всех трех царств живого: Bacteria, Archaea и Eukarya; установлена цепь генетических повреждений онкосупрессорных генов, приводящая к неопластической прогрессии опухолей желудочно-кишечного тракта с исходным повреждением в репаративной системе коррекции неспаренных оснований ДНК.

Авторитет, энергия и общительность Владислава Александровича неизменно делали его центром притяжения. Организованная им Лабо-

ратория молекулярной генетики стала инициатором многостороннего международного сотрудничества, а выросшие в ее стенах научные сотрудники теперь успешно работают в нашей стране и за рубежом.

Талант Ланцова как организатора науки и воспитателя научной молодежи раскрылся с созданием центра «Биофизика», который стал школой подготовки молодых кадров для ПИЯФ и других институтов Санкт-Петербурга.

За заслуги в развитии науки и техники в Ленинградской области 2007 года в номинации «За достижения в области фундаментальных наук» и за большой вклад в области развития биофизики В. А. Ланцов был удостоен звания лауреата научной премии губернатора Ленинградской области и Санкт-Петербургского научного центра РАН.

Из работ, выполненных в лаборатории В. А. Ланцова, можно отметить изящное исследование шага двойной спирали ДНК в нативных условиях *. Исследование транспозиции транспозона IS50, которая идет через образование комплекса и накладывает требования к ориентации концов ДНК, показало, что если длина донорной ДНК варьировала в пределах 66–174 пар оснований, то наблюдался драматический периодический эффект на частоту транспозиции (периодичность примерно составила 10 с половиной пар оснований).

Виталий Леонидович Калинин окончил ЛПИ в 1962 году, с 1970 года – кандидат биологических наук, с 1988 года – доктор биологических наук, с 1994 года – профессор. Им опубликовано 50 статей



В. Л. Калинин
(30.01.1939–20.05.2003)

и получены два патента на изобретения, написаны три учебных пособия для студентов.

В. Л. Калинин прошел путь от аспиранта кафедры биофизики ЛПИ до директора отделения ПИЯФ: с 1962 по 1965 год учился в аспирантуре, с 1965 года – младший научный сотрудник лаборатории биополимеров ИВС, руководимой профессором С. Е. Бреслером, с 1974 года – старший научный сотрудник кафедры биофизики ЛПИ, а с 1976 года – старший научный сотрудник Лаборатории молекулярной биологии ОМРБ ЛИЯФ. В 1986 году В. Л. Калинин возглавил группу индуцибельных систем клетки, в 1995 году был избран заместителем

* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1994.

лем руководителя ОМРБ ПИЯФ по научной работе, с февраля 1998 года являлся исполняющим обязанности руководителя ОМРБ ПИЯФ, а в мае 1999 года был избран на должность руководителя Отделения.

С 1974 года В. Л. Калинин занимался педагогической деятельностью. На протяжении нескольких лет он читал курс лекций «Биохимия» на кафедре биофизики Технического университета и подготовленные им новые курсы лекций «Молекулярная вирусология» и «Экспрессия генов и ее регуляция». Им были опубликованы три учебных пособия. В. Л. Калинин выступал научным руководителем пяти соискателей, защитивших кандидатские диссертации по специальностям «генетика» и «радиобиология»: В. Н. Шелегедина (1977), В. Н. Вербенко (1983), Р. А. Креновой (1984), И. Н. Суловой (1986) и Л. В. Коневеги (1994). В. Л. Калинин неоднократно выступал оппонентом на защитах кандидатских и докторских диссертаций в Санкт-Петербургском государственном университете и институтах РАН.

В. Л. Калинин в последние годы жизни заведовал кафедрой биофизики СПбГПУ.

Основные приоритетные результаты, полученные в области молекулярной генетики микроорганизмов, заключаются в следующем:

1) доказано существование мутагенной, склонной к ошибкам системы SOS-репарации у *Bacillus subtilis* и обнаружена зависимость активности этой системы не только от гена *recA*, но и от ряда других генов *rec*;

2) на моделях внеклеточного фага и профага λ оценен вклад SOS-репаративных функций в индукцию мутаций под действием УФ-света, γ -излучения и различных химических мутагенов. Установлено, что ионизирующая радиация индуцирует предмутационные повреждения двух типов, которые фиксируются в мутации независимо от различных путей репарации по механизму ошибок репликации или требуют для фиксации индукции SOS-системы. Анализ мутагенного действия распада, инкорпорированного в фаговую ДНК трития, показал, что к повреждениям первого типа можно отнести 5-оксиметилурацил, 5-оксицитозин и 8-оксигуанин;

3) впервые установлено, что повышенная радиорезистентность мутантов *Escherichia coli* обусловлена повышением эффективности репарации двунитевых разрывов ДНК и зависит не только от стандартных репаративных систем клетки, но и от присущей этим мутантам гиперэкспрессии стрессовой системы белков теплового шока. Из работ, выполненных в группе В. Л. Калинина, можно вспомнить обнаруженную неожиданную связь белков теплового шока с радио-

устойчивостью – эффект термоиндуцированной радиорезистентности*.

Исследования механизмов радиоустойчивости бактерий были продолжены Валерием Николаевичем Вербенко. Впервые удалось клонировать мутантные аллели, ответственные за повышение радиорезистентности *E. coli*, и сконструировать плазмиды, эффективно защищающие клетки дикого типа от ионизирующей радиации. Ученые показали, что клонированные локусы повышают эффективность работы RecF-пути репарации, кодируют конститутивный ингибитор экзонуклеазной функции белка RecBCD и вызывают конститутивную экспрессию белков теплового шока благодаря мутации в гене-регуляторе холодового стресса *cspA*.

Результаты можно резюмировать следующим образом. Устойчивость бактерий к наиболее опасному типу повреждений ДНК – двуниевым разрывам – определяется эффективностью рекомбинационной репарации. Современная модель рекомбинационной репарации двуниевых разрывов у *E. coli* основывается на RecBCD-зависимом пути репарации, сопряженном с реинициацией репликации, а RecF-пути отводит роль в репарации брешей или альтернативного механизма в отсутствие экзонуклеаз V и I. Были представлены доказательства того, что, по крайней мере, у радиоустойчивых мутантов *E. coli* Gam^r возможно одновременное функционирование обоих путей репарации, и только смешанный RecBCD-RecFOR-путь репарации способен исправлять множественные двуниевые разрывы в геноме этих бактерий.

*Воспоминания Дмитрия Байтина
о В. А. Ланцове и его лаборатории*

С Владиславом Александровичем Ланцовым мы познакомились в 1993 году, когда я пришел устраиваться к нему на работу. Мне было тогда все равно, чем заниматься – к моменту прихода я умел только считать дрозофил и вскрывать крыс, и это был чуть ли не единственный шанс попасть в большую науку. Отношения между нами сложились не сразу. Долгое время в них была явная настороженность. Однако вскоре сотрудники, обучавшие меня базовым биохимическим навыкам, уехали на Запад, и мы остались с ним вдвоем с энзиматической тематикой. Дело в том, что Ланцов был преимущественно генетиком, работал с чашками, поэтому мы с ним не очень понимали, с какой стороны под-

* Генетика. 1986.

ходить к биохимическим экспериментам. Я приносил ему результаты, сверенные с зарубежными научными статьями, предлагал что-то новое, но все это принималось им в штыки.

В этот период наших отношений невозможно переоценить роль Леонида Михайловича Фирсова. Он выступал арбитром большинства наших споров и часто помогал мне донести до Владислава Александровича свои соображения, и благодаря его участию Ланцов начал доверять проделанным мной экспериментам. Ну а после того как нам удалось опубликовать материал в иностранном журнале, наши отношения начали переходить в более позитивное русло. И все-таки по-настоящему иначе я стал смотреть на него чуть позже.

В какой-то момент мне открылось, что В. А. Ланцов в действительности – настоящий русский интеллигент с добрым сердцем. Пишу это абсолютно безо всякого пафоса, потому как пафосных речей он не любил. Если он видел, что мог кому-то помочь, то не медлил с предложением помощи. В лаборатории ходил слух о том, что одного из своих работников он ходил отстаивать даже в КГБ советского периода. В другой раз выбил помещение для разведенной женщины, чтобы дать ей возможность избежать болезненных встреч на работе с бывшим мужем. Как-то он пришел в мою группу вместе с Глазуновым для обсуждения нового проекта. Дело в том, что у того только что умерла жена, и, по замыслу В. А. Ланцова, мы должны были отвлечь его от горя новой работой. Разумеется, когда я оказался в бедственном положении, Владислав Александрович также вступился и за меня.

Мне приходилось слышать от некоторых коллег, что он в общении был жестким человеком, но это не так: естественно, ему приходилось проводить через начальство ОМРБ свое видение вещей, спорить и добиваться своего, а от сотрудников приходилось требовать соблюдение дисциплины, но, как гласит поговорка, игра не война. В целом В. А. Ланцов был, безусловно, позитивный оптимист. Он мог и легко входил в контакт с людьми. Как-то раз, просто на ходу, он сумел переманить к нам незнакомую работницу из другого института. В другой раз, будучи в командировке в Японии, увлек из этой далекой страны в наш ОМРБ очень серьезного ученого, который по сей день трудится вместе с нами – его зовут Михаил Петухов. Студенты тоже к нему тянулись – он приводил все новых и новых.

Уже к концу 90-х годов в лаборатории работало восемь человек, которых мы обучили обращению с рекомбиназными белками. В то время давали международные гранты, которые можно было получить совместно с крупными западными лабораториями. Наша лаборатория

получала гранты Сороса, Говарда Хьюза, японский грант Манбушо, американский Фоггорти, финансировалась грантом ИНТАС. Фронт работы заметно расширился – работали не только с мутантными белками ResA, но химерными конструкциями, состоящими из субдоменов псевдомонадной рекомбиназы, ResA из архебактерий, термофильными белками. Распространили свое влияние на соседние лаборатории – группы Филатова и Исаева-Иванова, начали публиковаться в журналах с рекомбиназной тематикой. Уровень лаборатории рос на глазах. Во многом этому способствовало личное знакомство В. А. Ланцова с крупнейшими зарубежными специалистами по гомологической рекомбинации: это и Стефан Ковальчиковский, Томоко и Хидоюки Огава, Майк Кокс, Сейки Курамицу. Большинство из них посещали наш город и нашу лабораторию, мы имели возможность общаться с живыми классиками.

Часто мы сами выезжали в зарубежные командировки, организованные Ланцовым. Безусловно, он был человеком, который умел создавать среду для научной дискуссии и работы. Это не был клуб одиночек – все взаимодействовали со всеми. Как очень работоспособный человек, он не терпел проявлений лени и апатии у коллег, но никогда не отчитывал человека в глаза. Владислав Александрович в совершенстве владел словом и, если необходимо было быть язвительным, то делал это крайне элегантно. В то же время ему в изрядной доле была присуща и самоирония – чувство юмора у него было превосходное.

Испытания болезнями Ланцов переносил стойко. Когда ему делали операцию в 2005 году, я находился в США на выполнении одного из своих контрактов: делал серию экспериментов, предназначенных для его лаборатории, и постоянно связывался с ним по электронной почте. Моему удивлению не было предела, когда через несколько недель, сопоставив все даты, я понял, что пик нашей активной переписки пришелся как раз на день операции. Потом все повторилось в 2008-м: я был в лаборатории, что на улице Хлопина. Владислав Александрович позвонил по коридорному телефону и вызывал всех по одному к трубке, чтобы отдать важные поручения по работе. Дошла очередь до меня: я выслушал его поручения. Потом он спросил: «Ну как ты сам? Все нормально?» Все, что я смог ему ответить: «Всего вам хорошего». Через полтора часа мы узнали, что Владислава Александровича Ланцова больше нет.

Сейчас, по прошествии времени, можно подвести некоторый итог – оценить, какой след оставила его деятельность в том разделе мировой науки, который касается гомологической рекомбинации. В лабораторию еще того, советского, периода были заложены основные предпосылки, которые получили развитие в дальнейшем: совместно

с Бреслером Ланцов подхватил и развил методы конъюгационной рекомбинации, основанные еще Ллойдом. Для обсчета данных впервые применена формула Холдейна.

Кроме того, подбор генетических маркеров усовершенствовали таким образом, чтобы обеспечить равновероятность рекомбинационных событий на каждом из анализируемых участков ДНК F'-плазмиды. Проанализировано более сотни мутантов *hesA* и других рекомбиногенных факторов. Метод оказался столь эффективным не только в качественном, но и количественном выражении, что и по сей день позволяет обнаруживать мутанты и анализировать межгенные взаимодействия, скрытые для глаз остальных исследовательских групп. Ярчайшим примером тому служит мутация в *RecA* – D112R, обнаруженная Бахлановой уже в начале 2000-х.

Ранее совместно с Евгением Зайцевым были впервые обнаружены и отсекувенированы последовательности генов *RecA* из *Pseudomonas aeruginosa*, а также *RecX* из *E. coli*. И если второе не получило вовремя своего развития, то результаты первого имели далеко идущие последствия, что подтверждено неоднократно публикациями Бахлановой и Байтина в международных журналах. Другая тема, получившая мировое признание, – рекомбиназы из археобактерий, в частности RadA из *Desulfurococcus amiloliticus*. В этих работах наиболее активное участие принадлежит Килю при частичном содействии Кудровой, Байтина и Глазунова. Третье направление – эукариотические рекомбиназы Rad51 из *Chlamydomonas reinhardtii* и *Pichia angusta*, в работе с которыми в первую очередь был задействован Шалгуев.

Лаборатория молекулярной генетики человека

С. Н. Пчелина, Г. А. Багиян



Взгляд из ближайшего окружения лаборатории

Образование и деятельность Лаборатории молекулярной генетики человека (ЛМГЧ) неразрывно связана с именем замечательного человека, выдающегося ученого – профессора, доктора медицинских наук Евгения Иосифовича Шварца (16.03.1940–01.06.2003). Еще в 1986 году он возглавил научно-исследовательскую группу в составе Лаборатории молекулярной генетики (руководимой в те годы В. А. Ланцовым) ЛИЯФ. С этого момента и на протяжении последующих 17 лет в молекулярно-генетических исследованиях ОМРБ происходили поистине тектонические потрясения. Небольшая группа профессора Шварца занялась изучением наследственных основ заболеваний человека – чрезвычайно интересным и необычайно трудоемким делом. Почти год был потрачен учеными на преодоление неприступных методических ухабов, и вдруг храбрым мушкетерам папы Шварца необычайно повезло: в 1987 году в мировой методической практике появилась полимеразная цепная реакция (ПЦР), многократно упростившая определение последовательности звеньев в цепи ДНК. Надо сказать, что ЛИЯФ более других академических институтов страны был готов к адаптации этой прогрессивной методики и своей технической оснащенностью (быстро были разработаны термоциклеры и источники питания для электро-

фореза), и тем, что в ОМРБ еще раньше для иных исследовательских целей было налажено О. К. Кабоевым производство термофильной ДНК-полимеразы – ключевого фермента для реализации ПЦР.

Официально же приказ о создании ЛМГЧ в составе ОМРБ ПИЯФ РАН был издан в 1991 году, однако большой коллектив, работавший под руководством Евгения Иосифовича, сформировался значительно раньше. Уже с 1988 года ученые – сотрудники ОМРБ трудились на базе Государственной педиатрической академии (СПбГПА), где в 1989 году под руководством Шварца была открыта одна из первых в России кафедр медицинской генетики.

Так сложилось исторически, что ЛМГЧ всегда была «лабораторией на стороне», лишь несколько ее сотрудников продолжали работать в стенах ОМРБ (А. Гольцов, С. Шевцов). Ее территориальное местонахождение во многом определяла, с одной стороны, специфика тематики научных исследований, посвященных изучению генетических основ заболеваний человека, а с другой стороны, кипучая энергия и талант ее руководителя Е. И. Шварца, у которого хватало энтузиазма и убедительности для создания новых и новых коллективов.

Так, наша лаборатория с 1991 по 2001 год трудилась в стенах Педиатрической академии в тесном и неразрывном содружестве с кафедрой медицинской генетики СПбГПА, а с 2001-го по настоящее время лаборатория располагается на территории Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова (ПСПбГМУ) и активно взаимодействует с Отделом молекулярно-генетических и нанобиологических технологий, открытым под руководством Е. И. Шварца в 2002 году.

Несмотря на то что лаборатория всегда была территориально вынесена за пределы нашего Института, душой мы всегда оставались сотрудниками ОМРБ ПИЯФ. Возможно, эта ценность и престижность – быть сотрудником ОМРБ ПИЯФ – была заложена и воспитана самим Е. И. Шварцем, поскольку он всегда говорил: «Где бы я ни трудился, я никогда не уволюсь из ОМРБ, и ПИЯФ до конца моей жизни останется основным местом моей научной деятельности». Е. И. Шварц очень гордился тем, что работал в Институте, и действительно, какие бы коллективы он ни возглавлял (кафедра СПбГПА, отдел ПСПбГМУ), его основным местом работы (и не только формально) всегда оставалось ОМРБ ПИЯФ.

За годы работы с Евгением Иосифовичем в лаборатории накоплен достаточный объем научных достижений, позволяющих и в настоящее время с гордостью говорить нам всем, увлекшимся в свое вре-

мя его научными идеями, что мы – ученики профессора Е. И. Шварца. В Санкт-Петербурге дважды (в 2010 и 2012 годах) был проведен Российский конгресс (с участием зарубежных ученых) «Молекулярные основы клинической медицины – возможное и реальное», посвященный памяти Е. И. Шварца. Коллектив, возглавляемый Евгением Иосифовичем, был первым в стране и одним из первых в мире, кто применил метод ПЦР для диагностики мутационных повреждений ДНК.

В 1988 году были получены первые результаты по природе мутационных повреждений при фенилкетонурии и β -талассемии. В 1990-м – создан метод амплификации ДНК с кровяных пятен на фильтровальной бумаге, который в настоящее время получил широкое внедрение в практическую работу многих лабораторий мира.

В 1993 году в Лаборатории молекулярной генетики человека были разработаны оригинальные методы оценки мутационных повреждений ДНК, метод идентификации личности на основе RFLP (ПДРФ) и SSCP D-петли митохондрий, впервые в стране создана карта мутационных повреждений моногенного заболевания – фенилкетонурии (90 % мутантных аллелей), что явилось основой эффективной профилактики этого заболевания.

Коллектив Евгения Иосифовича одним из первых в стране приступил к изучению наследственных основ мультифакторных заболеваний. Уже в 1996 году в лаборатории профессора Шварца были начаты работы по основам наследственной предрасположенности к диабету 1-го типа, сердечно-сосудистым и тромботическим заболеваниям, бронхолегочной патологии, болезни Паркинсона.

За годы работы в лаборатории получен ряд уникальных результатов в различных областях медицинской генетики: выявлены новые мутации, ответственные за развитие семейной гиперхолестеринемии, впервые описана роль гипергомоцистеинемии в основе развития варикозного расширения вен, нефропатии у детей с сахарным диабетом 1-го типа и ишемического инсульта головного мозга, дана оценка роли гена *Apo(a)* в молекулярной генетике инфаркта миокарда, впервые выявлен кооперативный эффект генов субъединицы IIIa рецептора тромбоцитов IIb-IIIa и серотонинового транспортера в формировании наследственной предрасположенности к развитию инфаркта миокарда у мужчин молодого возраста. Впервые показан строгий вклад аллельного варианта гена параоксоназы в формирование наследственной предрасположенности к болезни Паркинсона, показана зависимость индивидуальной чувствительности пациентов к терапии вар-

фарином от генотипов цитохрома СYP2C9 и гена эпоксидредуктазы витамина К.

Под руководством Е. И. Шварца защищены десятки диссертационных исследований. Ученики Евгения Иосифовича трудятся в различных лабораториях мира, но часто вспоминают годы, проведенные в ЛМГЧ ОМРБ как лучшие. Евгений Иосифович Шварц явился организатором нашей лаборатории и руководил ею с момента ее основания до самой своей смерти в июне 2003 года.

Время бежит, летит... И уже более 10 лет нашу лабораторию возглавляет мудрый доктор биологических наук Александр Львович Шварцман. В составе лаборатории сегодня работают 13 сотрудников: ведущие научные сотрудники д. б. н. Софья Николаевна Пчелина и д. б. н. Ольга Васильевна Сироткина, старшие научные сотрудники к. б. н. Анастасия Евгеньевна Тараскина и к. б. н. Антон Константинович Емельянов, научные сотрудники к. б. н. Татьяна Сергеевна Усенко и Екатерина Петровна Демина, младшие научные сотрудники Валентина Вадимовна Мирошникова, Мария Николаевна Грунина, Анна Михайловна Заботина, Павел Александрович Андоскин; Александра Андреевна Пантелеева, стажер-исследователь Михаил Николаев, старший лаборант Евгения Леонидовна Железняк.

В отличие от Е. И. Шварца, который обилием кипучих идей, своей жизнью, которую он не мыслил вне стен лаборатории, своим нетерпением научного результата немного подавлял инициативу сотрудников, А. Л. Шварцман, обладавший широтой знаний лабораторных подходов после 11 лет, проведенных в лаборатории США, щедро раздавал нам советы... и свободу. За эти годы лаборатория возмужала. В ней сформировалось несколько групп с независимыми и пересекающимися исследованиями. Группа по исследованию молекулярно-генетических основ болезни Паркинсона (д. б. н. С. Н. Пчелина, А. К. Емельянов, Т. С. Усенко, П. А. Андоскин, М. А. Николаев), сердечно-сосудистых заболеваний (д. б. н. О. В. Сироткина, к. б. н. В. В. Мирошникова, Е. П. Демина, А. А. Пантелеева, И. А. Семенова, Е. Л. Железняк), дисфункции дофаминергической системы при алкогольной зависимости и шизофрении (к. б. н. А. Е. Тараскина, А. М. Новикова, М. Н. Грунина).

Научные исследования, выполненные в нашей лаборатории, неоднократно занимали призовые места на конкурсе лучших работ ПИЯФ. Так, премиями были отмечены следующие работы: «Молекулярные основы β-таласемии Азербайджана» (А. А. Алексеев, Е. И. Шварц и др., 1989), «Исследование мутационных повреждений у больных фенилкетонурией гена фенилаланингидроксилазы» (С. В. Барановская, А. А. Голь-

цов, Е. И. Шварц и др., 1995), «Выявление генетических факторов риска развития венозного тромбоза в фармакогенетике антикоагулянтной терапии» (О. В. Сироткина, А. Е. Тараскина, С. Н. Пчелина и др., 2005), «Генетические причины гиперагрегации тромбоцитов» (О. В. Сироткина и др., 2008), «Определение функциональной активности тромбоцитов и чувствительности к антиагрегантным препаратам» (О. В. Сироткина и др., 2011), «ДНК-диагностика наследственных форм болезни Паркинсона» (А. К. Емельянов, С. Н. Пчелина и др., 2011), «Количество лимфоцитов, экспрессирующих на плазматической мембране D2-рецептор дофамина у человека в норме и при синдроме алкогольной зависимости» (М. Н. Грунина, А. Е. Тараскина и др., 2013).

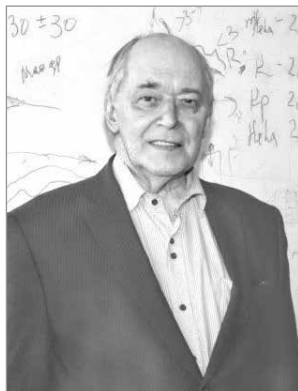
В ближайшее время, оправдывая свое название, ЛМГЧ будет продолжать исследовать молекулярные особенности развития ряда заболеваний человека. Основными останутся такие направления, как атеросклероз, ожирение, сердечно-сосудистые заболевания, нейродегенеративные. Также внимание будет уделено исследованиям индивидуального ответа на лекарственные препараты, в частности на препараты, модулирующие дофаминергическую нейротрансмиссию. При этом в лаборатории развиваются новые направления, такие как исследование эпигенетических изменений (оценка статуса метилирования генов при заболеваниях человека) и оценка тканеспецифичной экспрессии при патологии (в частности, в жировой ткани).

Творческая активность ЛМГЧ не осталась без внимания Минздрава СССР, и в 1990 году в ЛИЯФ прибыл замминистра А. А. Баранов с целью организации в Институте базы по широкому распространению в стране достижений лаборатории в области ДНК-диагностики наследственных заболеваний. Однако последовавший развал страны нарушил эти смелые организационные начинания, но творческая активность сотрудников лаборатории продолжала бурно фонтанировать, свидетельством чему десятки защищенных диссертаций под руководством Е. И. Шварца. И сегодня можно позавидовать продуктивности лаборатории: за 15 лет (с 1999 года) в отечественных изданиях опубликовано 90 статей, а в зарубежных – 20.

Лабораторию очень радует приток молодых кадров, которые после написания дипломных работ остаются у нас для выполнения диссертационных исследований. В настоящее время средний возраст сотрудников лаборатории составляет 34 года.

Лаборатория биополимеров

А. Л. Тимковский



А. Л. Тимковский

Лаборатория биополимеров ведет свое начало из ФТИ, и это позволяет говорить об определенной логичности ее истории и того, что уже более 40 лет она принадлежит ПИЯФ.

Решением Президиума АН СССР Семен Ефимович Бреслер в 1952 году был переведен из состава ФТИ вместе с небольшой группой сотрудников в недавно образованный ИВС. Из входивших в эту группу наиболее яркими были М. В. Гликина и С. Я. Френкель.

Группа пополнялась новыми сотрудниками, и основными направлениями работы в те годы были проблемы физической химии белков и синтетических полимеров (в лаборатории появилась новинка того времени – ультрацентрифуга Сведберга), попытки реализовать ресинтез полного белка из фрагментов под действием высокого давления и хроматография антибиотиков. Последняя работа, проводившаяся под руководством С. Е. Бреслера и Г. В. Самсонова, привела к созданию в нашей стране промышленной технологии очистки антибиотиков от токсичных примесей. Ее руководители были выдвинуты на соискание Государственной премии, но премии не получили, что повторялось потом и со многими другими работами С. Е. Бреслера и его сотрудников.

В 1954 году в штат группы были зачислены Е. М. Саминский и А. Т. Суходолова, а на выполнение дипломной работы из ЛПИ пришел Э. Н. Казбеков, студент кафедры физики изотопов. Это привело к появлению новой тематики – исследованию радикальных механизмов полимеризации и деструкции методами электронного парамагнитного резонанса. Поскольку приборная база в то время была достаточно бедна, Саминский с Казбековым сконструировали собственный ЭПР-спектрометр, на котором, в частности, им удалось зарегистрировать и изучить образование радикалов при механической деструкции полимеров. С 1954–1955 годов в лаборатории работали выпускники ЛГУ Р. А. Гравевская и А. Т. Суходолова, работы на ультрацентрифуге обеспечивал В. Н. Шадрин.

В январе 1957 года группа, руководимая С. Е. Бреслером, получила статус лаборатории и название лаборатории физической химии ИВС АН СССР, а в 1958 году Г. В. Самсонов, защитив докторскую диссертацию, с сотрудниками своей группы вышел из состава лаборатории и образовал в ИВС новую. С. Я. Френкель четыре года спустя также возглавил организованную в ИВС лабораторию физической химии синтетических волокон. Это ознаменовало начало нового этапа в жизни лаборатории Бреслера – практически полный перевод ее тематик в область биополимеров и молекулярной биологии с появлением окончательного названия Лаборатории биополимеров.

Особенно решительный шаг С. Е. Бреслер сделал после длительной командировки в 1960 году в США, где он познакомился с новейшими достижениями молодой тогда молекулярной биологии. Этот период связан с активным пополнением лаборатории главным образом выпускниками ЛПИ – по большей части кафедры физики изотопов, которая позднее стала кафедрой биофизики. Многие из этих выпускников стали позднее лидерами научных направлений ОМРБ. В 1959 году в лабораторию пришел А. В. Козлов, который занялся электронной микроскопией нуклеиновых кислот на новом (тогда) японском микроскопе. В 1961 году первые дипломные работы по генетике бактерий (но с применением радиоактивного фосфора-32) защитили В. А. Ланцов и А. Л. Тимковский. В том же году они были зачислены в штат лаборатории, так же как выпускница ЛГУ микробиолог Р. А. Кренева и М. И. Мосевичкий, который ранее, после учебы на кафедре физики диэлектриков и полимеров, несколько лет проработал на заводе «Светлана» и во ВНИИСКе.

В 1960 году С. В. Кириллов после защиты дипломной работы по измерению коэффициента диффузии макромолекул синтетического каучука поступил в аспирантуру к С. Е. Бреслеру для продолжения этой работы. Однако по возвращении Бреслера из зарубежной командировки полимерная тематика в лаборатории сменилась на молекулярную биологию. Так в 1960 году С. В. Кириллов стал первым аспирантом Бреслера по молекулярной биологии.

Первой классической работой по молекулярной биологии, выполненной Е. М. Саминским в соавторстве с В. Г. Алдошиным и С. Е. Бреслером, было измерение впервые в мире методом дифференциальной калориметрии энергии водородной связи при денатурации белков*. До этой работы были лишь теоретические предсказания-оценки Л. Полинга.

* Высокомолекулярные соединения. 1962. № 7. С. 1119–1123.

Первая работа по механизму биосинтеза белка в группе Е. М. Саминского была выполнена С. В. Кирилловым при участии Р. А. Граевской*. В работе впервые была выделена пептидил-тРНК из натуральной системы синтеза белка. Далее Саминский с Граевской стали изучать термодинамику взаимодействия тРНК с вакантной без мРНК рибосомой, т. е. базальное взаимодействие тРНК с рибосомой. Позже к работам в этой группе подключились Ю. В. Иванов, С. А. Нехай, Д. В. Парфенов. С другой стороны, С. В. Кириллов с В. И. Махно, В. Б. Одинцовым и Ю. П. Семенковым, изучая взаимодействие функциональных форм тРНК в присутствии матрицы, столкнулись с малой активностью рибосом в бесклеточных системах и стали искать причины инактивации рибосом и совершенствовать методы их выделения. Совместные усилия этих двух коллективов привели к получению полностью активных рибосом в синтезе белка *in vitro*, было доказано наличие третьего выходного сайта для связывания тРНК бактерий, а затем и в рибосомах эукариот, установлено распределение сайтов между субчастицами А и Р на малой, а Е – на большой субчастице. Все это привело к смене классической двухсайтовой модели на трехсайтовую. Творческое соперничество с немецкой группой Ниерхауза в определении свойств и роли третьего сайта в синтезе белка привело к безоговорочной смене модели на трехсайтовую и заняло около 10 лет. Сегодня мы можем гордиться тем, что третий сайт и все его свойства приняты такими, как они были установлены нами.

В 1962 году в лаборатории появился дипломант физмеха (помнится, по кафедре экспериментальной ядерной физики) В. Н. Фомичев, который активно включился вместе с Э. Н. Казбековым в усовершенствование ЭПР-спектрометра. Высочайшая научная и техническая квалификация В. Н. Фомичева позволила ему разработать оригинальные балансные резонаторы, на основе которых в лаборатории к 1967 году был создан уникальный по чувствительности, не имевший тогда аналогов в мире ЭПР-спектрометр для регистрации парамагнитных состояний биополимеров в водных растворах при комнатной температуре. Эту работу Фомичев начиная с 1968 года продолжил уже в Гатчине, где им и его группой был построен безмодуляционный ЭПР-спектрометр, превосходивший по характеристикам появившиеся тогда японские спектрометры.

Защитившие дипломы в 1962 году Е. А. Глазунов и В. Л. Калинин пришли в лабораторию в 1964 году с разницей в несколько меся-

* Биохимия. 1964. Т. 29. С. 353–362; Biochem. Biophys. Acta. 1966. V. 123. P. 5349.

цев. Е. А. Глазунов вместе с А. Г. Поповым и А. Т. Суходоловой включился в исследование ресинтеза белка под давлением (попутно вместе с Л. М. Фирсовым выполнив работу по аллостерическому эффекту у альфа-амилазы), а В. Л. Калинин специализировался в генетике бактерий.

В 1962 году в аспирантуру к С. Е. Бреслеру поступил Д. А. Перумов, до этого два года проработав на кафедре физики изотопов, где занимался проблемой разделения гафния от циркония. Начиная с 1964 года он выполнил вместе с В. Л. Калининым блестящий цикл работ по химическому мутагенезу на выделенной ДНК, после чего переключился на исследование генетической регуляции флавиногенеза у *Bacillus subtilis*, в котором в разное время принимали активное участие Е. А. Глазунов, Р. А. Кренева, В. В. Мачковский, И. М. Соловьева, К. А. Тарасов. Начальным этапом работы было открытие в этих клетках сверхсинтеза рибофлавина, промежуточным – создание и внедрение штаммов-продуцентов рибофлавина, а апофеозом – открытие и опубликование в 1999–2002 годах нового механизма регуляции транскрипции на основе прямого взаимодействия небелковых эф-фекторов с лидерной областью мРНК.



Д. А. Перумов

Далее это поистине выдающееся открытие последних десятилетий в мировой биологической науке подробно анализирует ведущий научный сотрудник ОМРБ С. В. Кириллов*.

В. Л. Калинин же в 1976 году основал и возглавил в РБО группу индуцибельных систем клеток, а позднее и ОМРБ, и кафедру биофизики СПбГПУ. Чуть раньше, в 1963 году, в лабораторию после окончания ЛГУ (кафедра биохимии) пришел В. М. Крутяков. Его последующая чрезвычайно интересная биохимическая работа привела к идентификации и размежеванию амидазной и эстеразной активностей трипсина. А в 1979 году он возглавил, уже в РБО, группу молекулярной цитологии, ставшую в конце концов Лабораторией биосинтеза ДНК, где были сделаны важные работы по нормальной и репарационной репликации ДНК у высших.

1963 год отмечен приходом в лабораторию и Л. М. Фирсова, путь которого в молекулярную биологию был по-своему замечательным.

* С. 170–211 настоящего сборника.

Окончив ЛЭТИ и поработав начальником цеха на производстве, он обнаружил, что ему интересна молекулярная биология, пришел к С. Е. Бреслеру, получил от него необходимую литературу, сдал экзамен и уже через три года в *Nature* была опубликована классическая работа, в которой с помощью дифференциальной спектрофотометрии были доказаны аллостерические превращения альфа-амилазы. В дальнейшем его имя теснейшим образом связано с работами по кристаллизации и рентгеноструктурному анализу глюкоамилаз в Лаборатории энзимологии Института, в заграничных научных центрах и на кафедре биофизики ЛПИ.

Начиная с 1960 года в Лаборатории биополимеров под руководством В. А. Ланцова проводилась все усложнявшаяся и разветвлявшаяся работа в области молекулярной генетики, в основном бактерий. Начинал он эту работу вместе с Ф. В. Певзнер и А. Лукьянец-Блинковой с исследования особенностей полового процесса у бактерий (мобилизация половой хромосомы и т. д.), затем группа разрасталась с приходом И. Ю. Горышина, А. С. Зильберглейта, Ю. В. Киля, В. И. Махно, М. Г. Драпкиной и других и постепенно от исследования транспозонов переходила к изучению рекомбинации и гиперрекомбинации, сосредоточившись главным образом на исследовании процессов с участием белка RecA.

В 1986 году в ОМРБ была организована под руководством В. А. Ланцова мощная Лаборатория молекулярной генетики, в которой эти исследования продолжались широким фронтом с добавлением молекулярной диагностики онкологических и вирусных заболеваний. Все эти годы в лаборатории проводились важные приоритетные работы под руководством М. И. Мосевичко по исследованию генетики бактерий, структуры ДНК, клеточных белков. В начале 1970-х годов им были получены электронно-микроскопические изображения рекомбинантных хромосом, вместе с Л. Г. Вячеславовым были получены и опубликованы в *Nature* данные по сплошному мутагенезу у *Escherichia coli* при тиминовом голодании, затем с Р. А. Креновой и В. В. Кушевым исследованы механизмы транскрипции. Позднее вместе с А. И. Лишанской и В. А. Новицкой были исследованы негистоновые белки, а теперь группа в новом составе (М. И. Мосевичкий, В. В. Захаров, Е. С. Кропотова, О. С. Форсова-Витюк) изучает белки и пептиды нейронов головного мозга, что может вскоре привести к разработке молекулярных рецептов коррекции патологических нарушений деятельности мозга и защиты лекарственных нейропептидов от протеолитического расщепления.

С 1967 года проводилась работа по изучению взаимодействия комплементарных полирибонуклеотидов и созданию высокоактивных

и малотоксичных полинуклеотидных индукторов интерферона. В работе участвовали Л. Н. Виговская, Е. А. Глазунов, Ю. В. Иванов, Е. Д. Мирлина, М. А. Суржик, А. Л. Тимковский, В. М. Чернаенко. Была разработана биотехнология проточного ферментативного синтеза полинуклеотидов и создан противовирусный препарат «Полигуацил», прошедший первые стадии клинических испытаний. Была сформулирована концепция нескольких уровней структурной организации дуплексов комплементарных полинуклеотидов – гомополимеров и предложены различные способы минимизации числа внутримолекулярных дефектов.

После завершения в лаборатории и перевода в Гатчину работ по совершенствованию методов ЭПР-спектроскопии Э. Н. Казбеков вместе с Н. Н. Васильевой и Л. А. Носкиным исследовал механизм действия оксидазы D-аминокислот, а затем полностью переключился на исследование структуры мембран и мембранных процессов у бактерий и высших. В этих работах участвовали Л. Г. Вячеславов, М. Жеребцова, В. Т. Иванов, Ю. Н. Орлов, И. О. Сумбаев, сотрудники Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН В. М. Бреслер и Е. Н. Ребане. Стимулировала эти исследования давняя идея С. Е. Бреслера и Э. Н. Казбекова о жидкокристаллической структуре биологических мембран. И. О. Сумбаевым была сконструирована лазерная установка для регистрации двойного лучепреломления в мембране хориоидного сплетения из мозга кролика. Л. Г. Вячеславов придумал и запатентовал модуль из полых волокон для ориентированного роста бактериальных клеток, на котором удалось увидеть разницу в транспорте глюкозы сквозь бактериальную мембрану при различной ориентации постоянного магнитного поля. Были зарегистрированы специфические особенности мембранного транспорта в почках у крыс с определенным типом патологической мутации. Ряд этих исследований был прекращен из-за гибели И. О. Сумбаева в 1994 году и смерти Э. Н. Казбекова в 2001-м. Далее исследование мембранного транспорта проводилось под руководством Ю. Н. Орлова, был разработан метод аффинной метки белков почечных мембранных каналов, белки-переносчики были выделены и охарактеризованы. Это составило материал ряда кандидатских диссертаций и докторской диссертации Ю. Н. Орлова.

Есть в жизни лаборатории и другие ключевые вехи, о которых нельзя не сказать. В 1970 году решением Президиума АН СССР, посчитавшего неуместным увлечение многих лабораторий и сотрудников ИВС биологическими проблемами, Лаборатория биополимеров

была переведена из состава ИВС АН СССР в ФТИ им. А. Ф. Иоффе АН СССР. После этого в связи с преобразованием филиала ФТИ в Гатчине в самостоятельный Ленинградский институт ядерной физики уже естественным событием стала передача лаборатории в 1971 году в его состав, где в штате РБО уже были бывшие сотрудники Лаборатории биополимеров. Столь же естественно направления работы сотрудников лаборатории вошли в тематику работы РБО, особенно после того как этот отдел был преобразован в отдел (затем отделение) молекулярной и радиационной биофизики, а Семен Ефимович в 1977 году стал его руководителем.

Другая веха – горестная – это кончина Семена Ефимовича в 1983 году. Она потребовала мобилизации всех сил для продолжения сложившихся под его руководством научных направлений и организации новых. Отделение возглавил В. Н. Фомичев, а Лабораторию биополимеров – Э. Н. Казбеков. Их обоих уже тоже нет с нами, так же как и многих других учеников С. Е. Бреслера, но за прошедшие 30 с небольшим лет, на которые пришлось еще и годы экономического развала и угнетения российской науки, научная работа в ОМРБ в целом и в нашей лаборатории в частности уцелела и продолжает развиваться. Об этом свидетельствуют и новые перспективные направления с организацией в ОМРБ новых лабораторий, и публикации в престижных журналах, и результаты конкурсов работ ПИЯФ, и защиты диссертаций – не только кандидатских, но и докторских, и успехи наших молодых сотрудников. Одной из наших сильных сторон является полидисциплинарность, характерная для современной науки. Очень многие работы в ОМРБ, и здесь Лаборатория биополимеров тоже не последняя, выполняются в содружестве представителей разных лабораторий отделения и представителей других научных организаций.

Лаборатория экспериментальной и прикладной генетики

С. В. Саранцева



Лаборатория экспериментальной и прикладной генетики была создана в 2010 году. Основное направление проводимых научных исследований – изучение наследственных заболеваний человека, моделирование на животных основных характеристик психических заболеваний человека, изучение патогенеза этих заболеваний, а также поиск средств и способов их корректировки и лечения. Сотрудниками лаборатории была создана и хорошо охарактеризована модель болезни Альцгеймера на *Drosophila melanogaster*, которая позволила разделить клеточные эффекты двух важных «игроков» в развитии патогенеза этого заболевания: белка, предшественника амилоида (APP), и амилоидного пептида бета.

Сотрудниками было показано, что экспрессия гена *APP* человека в нервных клетках *Drosophila* вызывает изменения экспрессии синаптических белков, морфологии грибовидных тел мозга, отвечающих за обучение и память животных, а также нейродегенерацию, и нарушает

способность к обучению и запоминанию. Экспрессия *APP* приводила к структурным и функциональным нарушениям синапсов нейромышечных контактов личинок *Drosophila*. Созданная на базе *Dr. melanogaster* модель болезни Альцгеймера воспроизводит ее основные нейроморфологические черты, наблюдаемые у людей, а именно изменение синаптической плотности, которое вызывает нейродегенерацию, образование и отложение амилоидного пептида бета, а также нарушение обучения и памяти. Исследование патогенеза болезни Альцгеймера в лаборатории на модели *Dr. melanogaster* обнаружило дефицит синаптического белка синаптотагмина в мозге трансгенных мух с избыточной экспрессией *APP* человека. Также было установлено, что экспрессия гена *APP* человека в нервных клетках *Dr. melanogaster* вызывает снижение уровня мРНК синаптотагмина. Кроме того, в нейромышечных контактах *Dr. melanogaster* происходят морфологические и функциональные нарушения, вызванные гиперэкспрессией гена *APP* человека. Изучено влияние гиперэкспрессии гена *APP* человека на холинергические и дофаминергические нейроны *Dr. melanogaster*. Впервые она была использована в качестве модели для векторной доставки потенциальных терапевтических препаратов для лечения болезни Альцгеймера к клеткам центральной нервной системы. Для этих целей был разработан метод инъекций пептидов в абдомен с последующим их обнаружением в мозге. Были исследованы нейропротекторные свойства миметиков аполинпопротеина E, а также возможность доставки этих пептидов через гематоэнцефалический барьер с помощью дендримеров и доменов белковой конструкции. Такие исследования помогают не только разрабатывать новые терапевтические препараты, но и лучше понимать механизмы, лежащие в основе патогенеза заболеваний. Результаты исследований лаборатории отражены в публикациях 2009–2014 годов в отечественных академических журналах, таких как «Доклады Академии наук», «Генетика», «Экологическая генетика», «Цитология», а также в ряде зарубежных журналов.

Другим направлением работы является изучение функций гена *swiss cheese* *Dr. melanogaster*, ортолога гена *NTE* млекопитающих, мутации в котором приводят к развитию одной из форм спастической паралигии и отставленной нейротоксичности. Исследования проводились на модели нейромышечных контактов личинок *Drosophila*. Надо отметить, что в настоящее время сотрудники лаборатории практически единственные в России, кто владеет методами анализа состояния синапсов, аксонов и мышц в нейромышечных контактах личинок. Было показано, что у мутантов по гену *swiss cheese* нарушены образование синаптиче-

ских бутонов, количество и распределение митохондрий в аксонах и синаптических терминалах, а также цитоскелет в мышечных клетках*^{**, **}.

Совместно с коллегами из Института медико-биологических проблем РАН исследуются различные аспекты жизнедеятельности *Dr. melanogaster* в условиях реальной микрогравитации и моделирования ее эффектов для последующего изучения молекулярно-генетических механизмов, лежащих в основе адаптационного ответа на экстремальные условия внешней среды. Короткий жизненный цикл, нетребовательность к техническому устройству систем жизнеобеспечения экспериментов на борту спутников или МКС, а также полностью секвенированный геном дают возможность проведения широкого спектра скрининговых исследований. Методики полногеномного секвенирования транскриптома, а также полного протеомного анализа на основе масс-спектрометрии позволяют в будущем рассчитывать на выявление механизмов регуляции развития и формирования адаптационного паттерна как на уровне клеточных структур, включающих регуляцию на уровне транскрипции и трансляции, так и на уровне целого организма. Учитывая, что многие подобные механизмы у насекомых и млекопитающих на клеточном уровне имеют большое сходство, можно полагать, что результаты таких исследований будут полезны не только с фундаментальной, но и с практической точки зрения, в частности при разработке подходов для протекции различных систем организма человека в условиях невесомости.

Лаборатория сегодня – коллектив высококвалифицированных специалистов и студентов различных вузов Санкт-Петербурга. За пять лет существования лаборатории были защищены одна докторская и две кандидатские диссертации, более 10 магистерских и дипломных работ. Опубликовано более 30 научных работ. Результаты исследований более 50 раз представлялись на международных и российских конференциях. Сотрудники лаборатории выполняют совместные исследования с коллегами из Санкт-Петербургского государственного университета, Института цитологии РАН, Института молекулярной генетики РАН, Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Психоневрологического института им. В. М. Бехтерева, Львовского национального университета им. И. Франко.

* Кислик Г. А. и др. Роль гена *sws* в формировании нейромышечных соединений *Drosophila melanogaster* и выполнении синаптических функций // Мед. акад. журн. 2012. Т. 12. № 3. С. 41–43.

** Kislik G., Tkachenko N., Sarantseva S. Functional Study of Swiss Cheese, Ortholog of the Hereditary Spastic Paraplegia Gene // Eur. J. Human Genet. 2013. V. 21. Suppl. 2. P. 224.

Лаборатория энзимологии

А. А. Кульминская



Основателем и руководителем лаборатории с 1993 по 2004 год был старший научный сотрудник кандидат биологических наук Кирилл Николаевич Неустроев – талантливый ученый, блестящий биохимик, прекрасный организатор. Собственно, с него и началась история Лаборатории энзимологии.

В 1984–1986 годах в ЛИЯФ пришли несколько молодых сотрудников: Кирилл Николаевич Неустроев, Александр Михайлович Голубев, Фарид Миникасимович Ибатуллин, Александр Евгеньевич Алешин, Константин Александрович Шабалин. Всех их объединила идея структурно-функциональных исследований ферментов углеводного обмена. Под руководством Л. М. Фирсова молодые люди занялись изучением структуры этих ферментов методом рентгеноструктурного анализа. Работа была успешно проведена, получены кристаллы фермента глюкоамилазы, и в 1991–1992 годах осуществлен рентгеноструктурный анализ этого белка с высоким разрешением. Результаты были опубликованы в ведущих международных журналах.

В последующие годы удалось получить структуру фермента в комплексе с рядом лигандов, что дало возможность изучить в деталях активный центр этого фермента. Однако к 1992 году стало понятно, что

молодым ученым следует дать возможность самостоятельно реализовать свой потенциал, и директором ОМРБ В. Н. Фомичевым было принято решение об образовании группы энзимологии в рамках Лаборатории биофизики макромолекул, куда вошли К. Н. Неустроев, ставший ее руководителем, и А. М. Качурин, а затем к ним присоединились Л. С. Исаева-Иванова, Е. В. Энейская и К. А. Шабалин. К 2003 году группа сумела вырасти в самостоятельную и успешную Лабораторию энзимологии, решение о создании которой и было принято в июле 2003 года. В период с 1993 по 2004 год был исследован ряд экзо- и эндогликозидаз из мицелиальных грибов и термофильных бактериальных источников. Опубликованы десятки научных статей в международных журналах. К сожалению, 12 июня 2004 года Кирилл Николаевич Неустроев трагически погиб. С тех пор лабораторией заведует кандидат биологических наук Анна Алексеевна Кульминская.

В течение последних лет в лаборатории продолжались исследования структурно-функциональных свойств ферментов углеводного обмена, включая подробный кинетический анализ их гидролитических и трансгликозилирующих свойств, изучались механизмы их действия. Появился опыт получения химико-ферментативным способом ряда соединений, востребованных биотехнологической промышленностью. В результате структурно-функциональных исследований установлены трехмерные структуры высокого разрешения и механизмы действия альфа-галактозидазы из *Trichoderma reesei*, β -галактозидазы из *Penicillium sp.*, экзоинулиназы из *Aspergillus awamori*, эндо-1,3(4)-глюканазы (ламинариназы) из *Rhodothermus marinus*. Стало понятно строение активных центров этих белков и выявлены аминокислотные остатки, участвующие в гидролизе гликозидных субстратов.

Разработаны оригинальный метод исследования термодинамики гликозидной связи, а также простой и эффективный метод оценки кинетических параметров ферментативных реакций, катализируемых микробными гликозидгидролазами.

Разработана стратегия рационального компьютерного дизайна комплексов α -галактозидаз с заданными субстратами, и по данным эксперимента *in silico* предложены мутации фермента, способные вызвать изменение региоспецифичности α -галактозидазы в реакции трансгликозилирования. Проведена экспериментальная проверка расчетов методом сайт-направленного мутагенеза и обнаружен и охарактеризован мутант, свойства которого оказались заметно изменены по сравнению с ферментом дикого типа. Осуществлены сравнительные опыты по определению кинетических и ферментативных свойств нативной

и рекомбинантной β -ксилозидазы из мицелиального гриба *A. awamori* X-100. Разработана эффективная система для мягкого, не химического, гидролиза ксилана с целью получения ксилозных сиропов или смеси растворимых сахаров. Система основана на использовании ферментов, β -ксилозидазы из *A. awamori* X-100 и β -ксилазы, иммобилизованных на полиметакрилатных носителях.

Сегодня у нас накоплен опыт по синтезу различных субстратов для целого ряда эндо- и экзогликозидаз (патенты № 2333915; 2378282; 2378283). В частности, разработаны методы синтеза новых *n*-нитрофенил и 4-метилумбеллиферил олигосахаридов, содержащих семь моносахаридных остатков, с использованием их для определения субсайтной организации активных центров гликозидаз. Проводится скрининг продуцентов новых ферментов среди микробных культур из собственной коллекции. Разрабатываются схемы выделения, характеристики и способы применения новых ферментов. В частности, обнаружены микробные продуценты комплекса таких ферментов, как фукозидаз и сульфатаз, способных фрагментировать фукосодержащие и сульфатированные соединения. Проведены исследования выделенной фукозидазы. Определены основные биохимические, физико-химические и ферментативные свойства альфа-L-фукозидазы. Исследуется механизм действия фукоиданов (фукозилированных полисахаридов из бурых водорослей) на различные клеточные линии.

От Лаборатории биосинтеза ДНК к Лаборатории протеомики

С. Н. Нарыжный

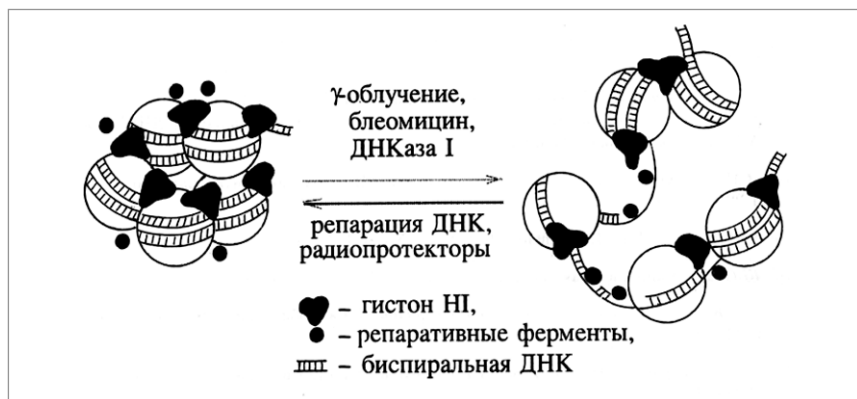
Лаборатория биосинтеза ДНК

С целью стимулирования развития современной молекулярной биологии и геной инженерии в 1979 году В. М. Крутяков одним из первых был переведен из петербургской лаборатории биополимеров в РБО в качестве заведующего группой молекулярной цитологии. Спустя год под его же руководством по инициативе профессора С. Е. Бреслера было образовано неформальное объединение сотрудников нескольких групп и лабораторий. В него вошли: группа молекулярной цитологии, часть группы Л. Е. Драбкиной из Лаборатории молекулярной биологии, группа В. Б. Касинова из Лаборатории радиационной генетики и группа Т. А. Шейкиной из Лаборатории радиационной цитологии. В 1981 году это объединение было оформлено в сектор биосинтеза ДНК под руководством В. М. Крутякова, спустя еще три года сектор был преобразован в Лабораторию биосинтеза ДНК. Постепенно росли и отделялись молодые сотрудники, что сильно ослабляло методические возможности подразделения. Несмотря на гранты Международного научного фонда Дж. Сороса и Правительства РФ (1995), а также Российского фонда фундаментальных исследований (1990, 1995–1997, 2000–2001, 2005–2007), полученные по проектам В. М. Крутякова, финансовая поддержка не позволяла приобретать необходимые для современных методов приборы и реактивы за рубежом (российских уже не было), да и зарплата не устраивала молодых. 11 ноября 2009 года в связи с 70-летием В. М. Крутякова лаборатория была преобразована в группу биосинтеза ДНК, а 15 ноября Валерий Михайлович тяжело заболел, и 1 декабря 2009 года его не стало. В мае 2010 года группа перестала существовать под таким названием, вошла в состав Лаборатории генетики эукариот, а в 2012 году в полном составе – в новую лабораторию, Лабораторию протеомики.

Лаборатория биосинтеза ДНК под руководством В. М. Крутякова изучала механизмы действия химических протекторов, затем занималась механизмами репарации ДНК у эукариот. В лаборатории впервые применили бесклеточную систему в виде выделенного хроматина для изучения процессов репарации ДНК млекопитающих*. Изучение ре-

* Крутяков В. М., Кравецкая Т. П. // Докл. АН СССР. 1976. Т. 227. № 5. С. 1265.

паративного синтеза ДНК в хроматине крысы и человека в сочетании с приемами диссоциации и реконструкции хроматина позволило установить, что одностранные разрывы в ДНК, вызванные гамма-облучением хроматина или действием эндонуклеаз, приводят к существенному ослаблению ее связи с гистонами и тем самым к увеличению доступа репаративных ферментов к повреждениям хроматиновой ДНК. Полученные данные позволили сформулировать гипотезу о деконденсации нуклеосом при повреждениях ДНК (рис.), обеспечивая тем самым доступность повреждений для репаративных ферментов*. Данная гипотеза была подробно проанализирована, а полученные материалы и публикации легли в основу кандидатской диссертации С. Н. Нарыжного (1984). Следует отметить, что в настоящее время роль структурной организации хроматина в репарации ДНК общепризнана и широко изучается.



Структурно-функциональная модель репарации ДНК в составе хроматина

Была выдвинута и экспериментально обоснована концепция о двойственной роли нуклеаз в выживании и гибели клеток. Репаративные ферменты спасают клетку при малой степени повреждения ДНК, тогда как при дальнейшем нарастании повреждений и деконденсации хроматина репаративные и неспецифические нуклеазы убивают клетку, т. к. в этом случае деградация генома уже не уравновешивается ресинтезом ДНК. Химические радиопротекторы, конденсируя хроматин, замедляют нуклеазную деградацию ДНК.

С 1983 года в лаборатории начали заниматься исследованием 3' → 5'-экзонуклеазной коррекцией ДНК-полимеразных ошибок, изу-

* Нарыжный С. Н., Крутяков В. М. // Радиобиология. 1979. Т. 19. Вып. 4. С. 490.

чением состава, свойств и функций мультиферментных комплексов ДНК-полимераз и $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеаз у млекопитающих. Впервые были выделены автономные $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеазы из ядер гепатоцитов крысы, обнаружены их комплексы с ДНК-полимеразами α , β и δ , и было показано, что автономные $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеазы эффективно исправляют ошибки ДНК-полимераз*. Было показано, что автономные $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеазы на 2-3 порядка увеличивают точность репродукции праймированной ДНК бактериофага фХ174 амбер 3, катализируемой ДНК-полимеразами α и β млекопитающих. Установлено, что автономная $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеаза способна существенно повышать точность работы даже ДНК-полимераз I и δ , проявляющих свою собственную корректорскую экзонуклеазную активность. Установлено, что суммарная активность автономных $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеаз сравнима или превосходит величину экзонуклеазной активности, ассоциированной с ДНК-полимеразами, в клетках позвоночных: рыб, амфибий, рептилий, птиц, млекопитающих, включая человека, а также беспозвоночных и одноклеточных микроорганизмов: архе- и эубактерий, грибов, инфузорий, кишечнополостных, кольчатых червей, членистоногих. Экспрессия $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеаз коррелирует с репликативным статусом органов взрослых млекопитающих. Обнаружено, что корректорские $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеазы млекопитающих образуют комплексы с ДНК-полимеразами α -семейства. Установлено, что через эти комплексы, локализованные в ядерной мембране и на ориджин-подобных сайтах, протягивается ДНК в процессе ее репликации *in vivo*. Найдены условия диссоциации и реконструкции репликативных комплексов, изучен их ферментативный состав. Комплекс катализирует синтез ДНК с высокой точностью: вероятность замены оснований составляет $3 \cdot 10^{-6}$. Удаление автономных $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеаз из комплекса снижает точность его работы на порядок величины. За период с 1981 по 2003 год в лаборатории защищены шесть кандидатских диссертаций (Т. П. Кравецкая, С. Н. Нарыжный, Н. В. Белякова, Н. Е. Клейнер, И. В. Шевелев и Н. Л. Ронжина), а также докторская диссертация (В. М. Крутяков).

Лаборатория биосинтеза ДНК была единственной в России, систематически изучавшей корректорскую роль автономных $3' \rightarrow 5'$ -экзонуклеаз в суммарной точности биосинтеза ДНК у млекопитающих. Результаты исследований были опубликованы более чем в 20 работах в ведущих отечественных и международных изданиях.

* Belyakova N.V. et al. // Eur. J. Biochem. 1993. V. 217. No. 2. P. 493.

Лаборатория протеомики



В начале 2010 года в Институт вернулся из Канады С. Н. Нарыжный, который защитил в следующем году докторскую диссертацию, а еще через год под его руководством из оставшихся сотрудников Лаборатории биосинтеза ДНК была организована Лаборатория протеомики. Исследования в ней ведутся в сравнительно новой научной области, которая характеризуется системным подходом к изучению белков. В отличие от классической биохимии, где экспериментатор изучает один или несколько белков, эта наука имеет дело с их полным набором, протеомом, присутствующим в исследуемом объекте (человек, плазма, клетка, внеклеточные и субклеточные образования и т. д.). Особенный интерес и внимание к протеомике возникли в последнее время, когда благодаря современным широкомасштабным методам белкового анализа стал проявляться чрезвычайно сложный и многообразный механизм функционирования живых организмов на уровне протеомов. С развитием протеомики связывают большие надежды по внедрению новых подходов в диагностике различных заболеваний и созданию новых лекарственных соединений. Работу в Лаборатории протеомики можно условно разделить на пять тем, хотя все они базируются на одном, классическом подходе протеомики – разделении белков двумерным электрофорезом высокого разрешения (2DE) с их последующим анализом, в основном масс-спектрометрическим или иммунологическим:

- выявление глобальных изменений на уровне протеомов, происходящих в клетках при их переходе от нормального состояния к раковому;
- определение набора (штрих-кода) маркерных белков, суммарный профиль экспрессии которых позволит диагностировать и судить о состоянии глиобластомы;
- протеомный анализ микрочастиц (экзосом), которые секретируются клетками. Функции экзосом пока еще не определены, но есть основания полагать, что их количественная и качественная характеристики могут дать существенную диагностическую и прогностическую информацию и служить биомаркером различных заболеваний, включая онкологические;
- создание каталога белков человека на основе двумерных электрофоретических карт;
- создание интерактивных баз данных о белках человека. Исследование носит хромосомоцентричный уклон в сторону 18-й хромосомы (реализация как часть проекта международной организации HUPO) и основывается на двумерных виртуальных картах.

Несмотря на небольшое время существования лаборатории и чрезвычайно скудное приборное оснащение, благодаря тесному сотрудничеству с Лабораторией клеточной биологии ОМРБ и Научно-исследовательским институтом биомедицинской химии им. В. Н. Орехова (Москва) уже получены интересные данные. Это в первую очередь данные, касающиеся перемен как на уровне всего клеточного протеома, так и на уровне протеомов отдельных белков при переходе клеток из нормального состояния в раковое. Эти данные позволят определить список белков-маркеров глиобластомы, а также потенциальные мишени для ее терапии. Протеомные профили в нормальных и глиобластомных клетках очень похожи, однако уровни содержания многих белков сильно отличаются. Среди таких белков выделяются ядерный антиген делящихся клеток (Proliferating Cell Nuclear Antigen – PCNA) и p53 (TP53). Особенно интересные результаты были получены для белка p53. По сравнению с нормальными клетками в глиобластомных уровень данного белка не только сильно повышен, но еще и сопровождается появлением множества дополнительных форм. Таким образом, использование иммуноферментного анализа (Вестерн-блота) трех хаб-белков (p53, 14-3-3 и PCNA) позволило получить минимальный штрих-код глиобластомных линий.

Лаборатория биоорганической и медицинской химии

Ф. М. Ибатуллин



В Лаборатории общей радиобиологии (зав. лаб. А. Г. Свердлов) на протяжении многих лет совместно с Лабораторией органического синтеза (зав. лаб. С. А. Грачев) традиционно изучалось биологическое действие на организм различных видов ионизирующего излучения, велись поиски химических соединений, способных защищать от поражающего действия излучения, исследовались факторы, влияющие на радиопротекторный эффект таких соединений. Прежде всего было установлено, что у мышей и крыс критически поражаемым является эпителий пищеварительного аппарата, тогда как у высших приматов на первый план выступают повреждения кроветворной системы. Далее, как на клеточном, так и на организменном уровне не наблюдалось каких-либо качественных изменений при действии разных видов излучения: гамма-, рентгеновского, нейтронного. Различия были только количественными: равные дозы нейтронов и гамма-излучения приводили к одним и тем же изменениям. Наиболее эффективными радиопротекторами оказались аминотиолы и их производные. С лучшими из них при гамма- и рентгеновском облучении мышей и крыс удавалось

достигать фактора изменения дозы (ФИД) порядка 1,6 в присутствии аминоэтилизотиуриона, тогда как при облучении нейтронами в присутствии цистаминна и гаммафоса максимальные значения ФИД достигали соответственно до 1,2 и 1,35. Из этих исследований следует, что при облучении нейтронами происходит поражение критических органов крупных животных не столько от собственно нейтронов, сколько в результате вторичной гамма-радиации.

Основными препятствиями для эффективного использования радиопротекторов являются их крайне ограниченный срок действия в организме и высокая токсичность аминотиольных препаратов. В Лаборатории органического синтеза впервые были синтезированы производные аминотиолов, содержащие на серном конце молекулы по два, три атома серы – тиоцистафос, тиогаммафос, гуанидиноэтансульфенилтиосерная кислота, а также полиглюкофос – пришитые по аминогруппе к полимеру декстрану молекулы цистафоса. Действующим защитным началом в этих соединениях продолжает быть аминотиольная составляющая, но в них она дольше сохраняется из-за более медленного ее гидролиза в организме млекопитающего по сравнению с традиционными аминотиолами. В результате время эффективного действия радиопротекторов возросло в 3-4 раза. Существенно уменьшить токсичность препаратов-аминотиолов удалось путем присоединения аминотиольного остова радиопротектора к унитиолу в реакции совместного окисления этих соединений с образованием соответствующего смешанного дисульфида. Меньшая токсичность полученных соединений позволила увеличить вдвое концентрацию вводимого радиопротектора, и при гамма-облучении ФИД на этих протекторах достигал значений 1,8. К сожалению, эффект унитиола при нейтронном облучении существенно меньше, чем в случае защиты от радиации с низкой линейной потерей энергии. С целью исследования механизма радиолитического распада нуклеиновых кислот в лаборатории в 1983–2001 годах проводилось подробное сравнительное изучение продуктов радиолитического распада нуклеозидов, нуклеотидов и их звеньев в составе ДНК и РНК.

В настоящее время Лаборатория органического синтеза носит название Лаборатории биоорганической и медицинской химии (зав. лаб. к. х. н. Ф. М. Ибатуллин), которая в основном занята синтезом препаратов для эффективной диагностики и терапии опухолевых и сердечно-сосудистых заболеваний.

Лаборатория криоастробиологии

С. А. Булат



Пик научных работ в Антарктике пришелся на 70–80-е годы XX века, когда там были открыты залежи каменного угля, железной руды, полиметаллических руд, драгоценных и редкоземельных металлов. Сегодня общий объем углеводородного сырья, находящегося на шельфе антарктических морей, оценивается в 35–50 млрд тонн условного топлива. В 1997 году вступил в силу Протокол об охране окружающей среды, который запрещает в Антарктиде в течение 50 лет любую деятельность по освоению минеральных ресурсов, кроме научной.

Исследования ледового щита Антарктиды

В оазисах Антарктиды и на субантарктических островах располагается большое число озер с различным химическим и физическим составом вод, биоразнообразием и ледовым режимом. Некоторые из таких озер вскрываются ото льда каждый год, некоторые – один раз в несколько лет, другие не освобождались от ледового покрова за весь 50–60-летний период регулярных наблюдений. Ни рыб, ни членистоногих в антарктических озерах пока не обнаружили. Жизнь в них, как

правило, представлена бактериями, грибами, водорослями и другими простейшими. Глубина в таких озерах варьируется от нескольких десятков до сотен метров. Подледниковые озера располагаются под мощным ледовым щитом (до 4 км) в центральных районах Антарктиды. Первым было обнаружено подледниковое озеро Восток – крупнейшее из десятков известных антарктических озер. Его открыли в середине 1960-х годов и назвали в честь знаменитой российской станции, расположенной практически над ним. По площади водного зеркала (более 15 тыс. км²) оно сравнимо с такими известными озерами, как Онежское, Чад и Титикака. Огромная толща льда на протяжении 15 млн лет скрывает от поверхностной биоты (если она там есть) воды Востока, которые могут служить убежищем древних бактерий. Чтобы не навредить экосистеме уникального водоема, исследования проводятся с использованием наиболее безопасных дистанционных методов, информативность которых достаточно высока.

Сегодняшнее состояние исследований озера Восток

Озеро Восток, скрытое под четырехкилометровой толщей антарктического льда, – это прежде всего уникальная водная экосистема, изолированная от земной атмосферы и поверхностной биосферы. Полное отсутствие света, высокое давление (до 400 атм), специфическое газовое содержание и состав воды, а также продолжительная изоляция озера предполагают возможность возникновения и развития здесь форм жизни, существенно отличающихся от известных современной науке. Изучение, возможно сохранившихся, реликтовых видов микроорганизмов будет способствовать лучшему пониманию процессов развития жизни как на нашей планете, так и на других планетах Солнечной системы. Значительные размеры озера (глубина водного слоя достигает 1 500 м, а площадь сопоставима с площадью крупнейшего в Европе Ладожского озера) позволяют рассматривать его в качестве земного аналога морей, предположительно существующих под ледяными панцирями на спутниках Юпитера – Европе и Сатурна – Энцеладе. В связи с этим район озера Восток представляет интерес как полигон для отработки методов и средств обнаружения и изучения жизни в экстремальных, в т. ч. и взеземных, условиях. В проекте по проведению комплексных исследований подледникового озера Восток участвовали и продолжают участвовать ученые и специалисты из девяти научно-исследовательских учреждений, в числе которых специалисты Лаборатории криоастробиологии ПИЯФ НИЦ КИ.

Буровые работы на станции «Восток» проводятся силами специалистов Санкт-Петербургского горного университета, являющегося основным разработчиком средств и технологий kernового бурения глубоких скважин во льду, основная часть которых бурилась для получения непрерывного ледяного керна. Собранная при его анализе информация дала возможность восстановить климатические характеристики за 420 тыс. лет. Было выявлено почти четыре цикла похолоданий и потеплений. Кроме того, полученные керны льда были переданы для микробиологических исследований. Затем скважина вошла в придонный горизонт льда, который оказался деформированным, и керн уже нельзя было использовать для сколько-нибудь точной реконструкции климата.

В 1998 году бурение «восточной» скважины было остановлено на глубине 3 623 м от поверхности ледника, на расстоянии примерно 140 м от контакта ледника с подледниковым озером. На глубине 3 538 м скважина вошла в толщу озерного льда, которая образовалась в результате намерзания воды на нижнюю поверхность ледникового покрова. Исследования керна замерзшей воды озера позволили получить первые данные о его химическом, газовом и биологическом составе. Было установлено, что вода подледникового озера, по-видимому, пересыщена атмосферными газами, в частности кислородом, ибо озерный лед по измерениям оказался фактически не содержащим воздух (содержание на 2-3 порядка ниже, чем во льду атмосферного происхождения).

Молекулярными биологами из ПИЯФ во льду озера Восток обнаружены ДНК термофильных бактерий, которые, очевидно, обитают в гидротермальных водах, циркулирующих по глубинным разломам земной коры под озером. Существование гидротермальной активности на дне озера Восток подтверждается результатами изотопных исследований озерного льда, выполненных специалистами Арктического и антарктического научно-исследовательского института. Вероятность существования жизни в подледниковом озере достаточно низка. Обнаружено, что концентрация воздуха в тающем ледниковом льду атмосферного происхождения составляет примерно 113 мг/л. Газовые пузырьки на поверхности ледника по мере движения вглубь превращаются в кристаллические включения. Достигнув поверхности озера за счет плавления базальных слоев ледника в северной части озера, эти кристаллики воздуха, растворяясь частично или полностью, переходят в озерную воду, насыщая ее атмосферными газами. Если озеро замкнуто, то с течением времени концентрация кислорода и азота в подледниковой воде должна стать значительно выше, чем в обычной воде (по некоторым расчетам достигнув одного грамма кислорода на литр).

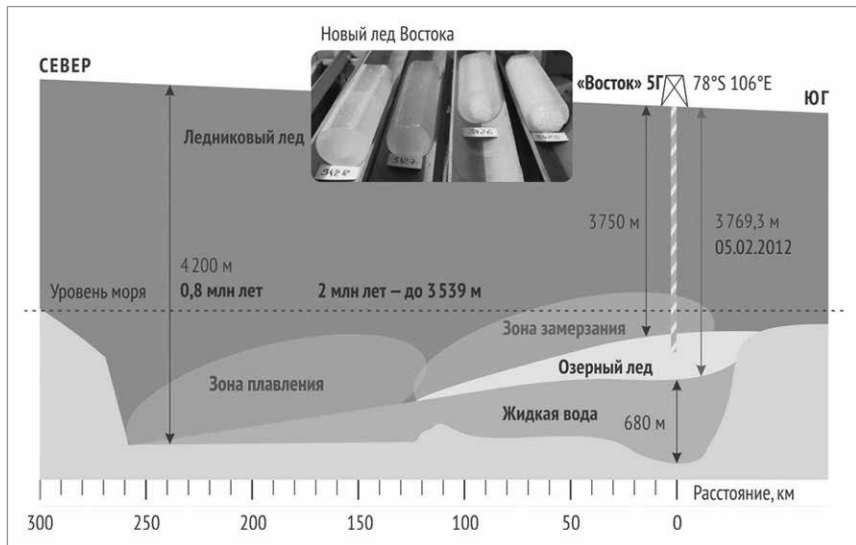
Основные научные достижения

Большая коллекция образцов льда почти полного керна «Восток» (до глубины 3 764 м) наиболее подробно исследована в ПИЯФ НИЦ КИ с привлечением специалистов ВНИИ Океангеологии им. И. С. Грамберга. Обработка образцов льда в плане деконтаминации и плавления была проведена российскими специалистами Института в холодных и чистых помещениях Лаборатории гляциологии и геофизики окружающей среды (ЛГГОС) Национального центра научных исследований (Гренобль, Франция). Однако, как было отмечено выше, начиная с глубины 3 539 м лед оказался отличным от верхнего атмосферного льда как по газовому и изотопному составу, так и по структуре. Было показано, что это озерный (аккреционный) лед, который в связи с его происхождением и составом делят на два типа. Первый (верхний) тип льда содержит видимые включения минеральных осадков размером до 1,5 см, и, по расчетам гляциологов, он образуется в прибрежной черте озера. Второй тип льда (начиная с отметки 3 609 м и глубже) образуется над глубокой частью озера (глубина до нескольких сотен метров) и является абсолютно чистым. Несмотря на то что присутствие микробных клеток во льду озера Восток было уже заявлено американцами в 1999 году, необходимо было учитывать большую вероятность загрязнения образцов чужеродными бактериями и относиться к этим выводам осторожно. Деконтаминация, т. е. удаление всех привнесенных извне организмов или их ДНК, является одной из критических стадий, от которой зависит конечный результат.

Основными методами исследования, впервые примененными биологами ПИЯФ для решения этой суперсложной задачи, стали методы молекулярной филогенетики, в частности ДНК-анализ генов малой субъединицы рибосомной РНК бактерий и археобактерий с соблюдением правил работы с «древней» ДНК, где также велика вероятность загрязнения чужеродной ДНК.

Согласно данным химического анализа и анализа льда на содержание пыли известно, что антарктический лед очень чистый, и его обработка и последующие анализы требуют соблюдения определенных условий. К таким условиям относится необыкновенная чистота всего, с чем соприкасается лед при его обработке. Так, процедуры обработки и анализа проводят в специальных строго изолированных несколькими шлюзами чистых помещениях, снабженных особой системой фильтрации воздуха. Современное аналитическое оборудование очень чувствительно, прибор различает, во что вы одеты – в чистую специальную

одежду или в то, в чем сидите в офисе или ходите по улице. Не меньшее значение имеет и вода, которой обмывают лед. Цикл очистки воды, пригодной для работы, состоит из нескольких этапов. В итоге получают такую ультрачистую воду, по сравнению с которой дважды дистиллированная вода выглядит как слабоминерализованная. Благодаря французским коллегам российские специалисты имеют доступ к чистым помещениям, ультрачистой воде и другому оборудованию в ЛГГОС.



Что же найдено в озерном льду по настоящее время? В целом можно сказать, что российские исследователи не подтвердили ни то количество микроорганизмов, ни те виды, которые заявили американцы в двух своих публикациях 1999 года. По данным Лаборатории криоастробиологии ПИЯФ НИЦ КИ, лед Центральной Антарктиды (как озерный, так и атмосферный) настолько чист, что практически не содержит микробных клеток. Особенно чист озерный лед второго типа. Большинство найденных по ДНК микроорганизмов (и виды, идентифицированные американцами) относятся к контаминантам, т. е. посторонней микрофлоре, которая случайно попадает в образцы при их отборе, обработке или анализе.

Для обеспечения особых требований чистоты ученые отобрали путем поиска самые чистые и надежные реактивы, выбрали производителей наиболее чистого пластика, который тем не менее сами дополнительно обработали – удалили микробы и разрушили ДНК высокими до-

зами γ -радиации. Были разработаны специальные протоколы обработки льда в холодной камере для полного удаления пленки керосина/фреона, особые протоколы обработки льда в чистой комнате непосредственно перед плавлением, протоколы концентрирования водных растворов и выделения ДНК.

Таким образом, в результате проведенных исследований было выявлено лишь несколько видов бактерий, которые были вскрыты только в образцах озерного льда первого типа (с минеральными включениями). Наиболее глубокие и древнейшие слои атмосферного льда (возрастом до 2 млн лет), располагающиеся прямо над озером, не дали никакого достоверного сигнала. Это означает, что глубокий и древний атмосферный лед служит своеобразным барьером между экосистемой озера и поверхностной биотой на протяжении по меньшей мере 15 млн лет.

Среди достоверных находок в озерном льду единственный организм, не вызывающий никаких сомнений в том, что он не контаминант, оказался термофильной и хемоавтотрофной бактерией *Hydrogenophilus thermoluteolus*. Впервые эта бактерия была обнаружена нами в образце льда с глубины 3 607 м, но в последующем была подтверждена в другом образце этого же льда (3 561 м). Интересно, что данные горизонты разделены между собой слоем льда толщиной 47 м и возрастом около 5 тыс. лет. Конечно же, эти термофильные бактерии не могут обитать в самой воде озера (температура $-2 \dots -3$ °C). Было предположено, что они могут жить в относительно теплых ($40-60$ °C) анаэробных осадочных породах, богатых диоксидом углерода и водородом в глубоких (на глубине 2-3 км) разломах – на дне или в окрестностях озера, и выбрасываться в мелководный залив озера (где образуется озерный лед первого типа) в результате сейсмотектонической активности, периодически происходящей в районе озера Восток. Существует несколько геологических и геофизических подтверждений такого сценария.

Хочется отметить, что находка термофильных бактерий в озерном льду дала импульс для пересмотра целого ряда геологических и геофизических параметров озера, что сделало его наиболее полно изученным из всех подледниковых озер Антарктиды и тем самым наиболее желанной мишенью для проникновения. Отметим, что 5 февраля 2012 года наконец-то состоялось первое проникновение в озеро на глубину 3 769,3 м. Второе проникновение произвели три года спустя, 25 января 2015 года. Однако в обоих случаях пробы чистой озерной воды отображены не были и содержание кислорода в воде не измерялось.

Озерная вода после каждого проникновения поднималась в скважину, вытесняя «грязную» буровую жидкость, при этом смешиваясь

с нею. Такого рода «техногенная» озерная вода после замерзания в скважине разбуривалась вновь, и ученым-специалистам для анализов были предоставлены образцы. ДНК-анализы замерзшей в скважине воды, полученной в результате первого проникновения (февраль 2012), выявили неизвестный науке до сих пор неидентифицированный и неклассифицированный филотип бактерий, озерное происхождение которого будет доказано в результате последующих анализов проб, отобранных непосредственно в озере.

В целом из выявленных по настоящее время в замерзшей озерной воде 49 уникальных филотипов бактерий лишь два филотипа (вида) прошли весь контроль на загрязнение и могут представлять микробиоту подледникового озера Восток – новый тип бактерии w123-10 (88 % сходства с представителями подцарства OP11 или OD1) и неизвестного вида и рода бетапротеобактерии 3429v3-4 (93 % сходства с *Janthinobacterium sp.*). Первый из них обнаружен в сегменте замерзшей на буровой коронке воды озера (drillbit-вода), тогда как второй – в сегменте замерзшей в скважине воды озера с глубины 3 429 м. Оба данных филотипа представляют особый интерес, что обусловлено двумя причинами. Во-первых, их отдаленным или далеким родством с известными в мировой базе данных бактериями. Во-вторых, экстремальными условиями подледникового озера Восток, к которым обычные, живущие вокруг нас, микроорганизмы должны быть приспособлены путем значительных эволюционных перестроек генома.

Лаборатория медицинской биофизики

Л. А. Носкин



Причиной, побудившей меня поделиться на этих страницах собственным опытом организации и реализации прикладных исследований, стала статья в настоящем сборнике моего коллеги и соавтора М. В. Филатова «Свидетели науки, или Уроки истории клеточной биологии в ПИЯФ». Ее автор затрагивает, но не разворачивает важные проблемы прикладных исследований нашего отделения. Так, в связи с финансированием большой работы по заказу Третьего главного управления при Минздраве СССР Филатов сообщает: «Оперативное проявление в СССР этой новой техники не осталось незамеченным, и благодаря неординарным организационным способностям некоторых научных сотрудников ОМРБ, прежде всего Леонида Алексеевича Носкина, это направление получило баснословную по тем временам финансовую поддержку – около миллиона долларов». Признание моих заслуг коллегой следует отнести к реабилитации престижа прикладных исследований, в отличие от распространенного в отделении ироничного в целом отношения. Кроме того, оно инициировало желание высказаться по сути становления и механизма реализации «неординарных организационных способностей». Пусть не покажутся кому-то эти слова рекламным

самовосхвалением: мною движет другая мотивация – осуждение тех, кто к прикладным исследованиям относится как к императиву сиюминутного достижения материальных благ. Дело в том, что склонность к прикладной деятельности закладывается годами, требует мобилизации накопленных фундаментальных знаний и воспитания в себе чувства междисциплинарного взаимодействия, когда превалирует не желание что-то доказать, а необходимость в чем-то помочь. При этом не игнорируются фундаментальные достижения других коллег Лаборатории медицинской биофизики, о чем свидетельствуют публикации и тесные контакты с учеными остальных подразделений ОМРБ.

Ретроспективно оценивая 50-летний путь становления медицинской биофизики в ОМРБ, необходимо подчеркнуть, что данное направление формировалось для возможного внедрения в медицинскую практику многих методических достижений лаборатории. Надо отметить, что кристаллизация такого направления была издавна инициирована С. Е. Бреслером. Его интерес к решению задач практической медицины проявился раньше увлечения молекулярной биологией. Так, единственную государственную награду (орден Красной Звезды) он получил в 1950-е годы за хроматографическую очистку антибиотика стрептомицина. Такие работы говорят о серьезности его интересов в области прикладных исследований, и интерес этот не покидал его до самой кончины. Попеременно он увлекался очисткой противогриппозной вакцины на широкопористых стеклах, синтезом наименее токсичных индукторов интерферона и даже очисткой нефтепродуктов от меркаптанов. Надо отметить, что на стадии лабораторных или полупромышленных испытаний многие разработки демонстрировали хорошие результаты. Однако широкая внедренческая перспектива не достигалась, и проекты оказывались практически не реализованы. Объяснение причин очевидно: талантливые, энергичные, заточенные на успех молодые сотрудники с фундаментальной подготовкой сталкивались с трудностями в преодолении организационных структур медицинской и промышленной практики, которую нисколько не интересовали фундаментальность уровней предлагаемых новаций, а только коммерческая успешность в минимальные сроки и в максимальном объеме.

В конце 70-х годов С. Е. Бреслер предложил мне сосредоточиться на организации прикладных исследований, актуальных для медицинской практики. Побудительных к тому причин было несколько: как единственный сотрудник с медицинским образованием, я имел до поступления в лабораторию еще и медицинскую практику в области лечения проказы и реабилитационной неврологической коррекции. Корот-

кий срок деятельности в лепрозории был отмечен серьезным успехом в лечении язв с помощью многократной подсадки донорской кожи. Это был начальный опыт практической реализации разработанной мной методологии. Диссертацию на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, выполненную в годы учебы в Одесском медицинском институте, защитил в 1967 году в Институте экспериментальной и клинической онкологии (Киев) по теме «Изучение изозимного спектра трансаминаз и декарбоксилаз в опухоли Герена». Работа предполагала стыковку фундаментальных исследований с требованиями практики медицинской диагностики. Практическая значимость этих исследований была отмечена в 1962 году на Всесоюзном съезде студентов-онкологов. Награда состояла в том, что академик А. Е. Браунштейн, мировой лидер в изучении проблем энзиматического переаминирования, презентовал яшмовую ступку, необходимую для экономного приготовления дорогостоящего тиаминтрифосфата. Кроме того, по его представлению полученные результаты были опубликованы в журналах «Вопросы онкологии» и «Вопросы медицинской химии».

Приведенные эпизоды научной биографии свидетельствуют о том, что медицинская составляющая моих научных интересов закладывалась на самых ранних этапах становления. Такая приверженность решению сложных компромиссов между фундаментально значимыми проектами и их прикладными возможностями поставила меня перед выбором между академической наукой и практической медициной. Окончательный выбор был определен выходом книги С. Е. Бреслера «Введение в молекулярную биологию» (1963). После ознакомительной беседы с Бреслером по его рекомендации мне пришлось освоить четырехлетний курс на химическом факультете Одесского государственного университета. За свою настойчивость был вознагражден решением С. Е. Бреслера рекомендовать меня на работу в филиал ФТИ (Гатчина) в подразделение С. В. Кириллова. Мой компромиссный характер и медицинская эрудиция способствовали расположению Кириллова, но не Бреслера, который с некоторым скептицизмом предложил мне работу в группе Э. Н. Казбекова, в составе которой в то время с большим успехом дебютировал В. Н. Фомичев в задачах создания балансных резонаторов для электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Будучи крайне довольным столь лестным предложением, я допустил непростительную ошибку: строго определенная фундаментальная тематика модернизации ЭПР позволила мне освоить только уровень покрытия резонаторов серебром, и то не всегда успешного. В течение трехлетнего мытарства в тематике ЭПР я с большим напряжением выполнил

работу, опубликованную в «Молекулярной биологии», посвященную ЭПР-исследованию диспропорционирования свободнорадикальных состояний в некоторых окислительно-восстановительных превращениях d-аминоксидаз. Надуманная фундаментальная значимость этой проблемы с лихвой нивелировала мой научный потенциал, и В. Н. Фомичевым при поддержке Э. Н. Казбекова мне было сделано настойчивое предложение об изменении научной тематики. С. Е. Бреслер, сохранявший дружеское ко мне расположение, после переговоров с тогдашним руководителем ОМРБ профессором А. Г. Свердловым принял соломенно решение: просьбу Казбекова – Фомичева удовлетворить, но перевести меня на тематику лаборатории Свердлова, занимавшуюся исследованиями механизмов действия радиопротекторов.

Укоренившаяся расположенность Бреслера к прикладным исследованиям была спасительным предзнаменованием будущей успешности моей научной карьеры. Дело в том, что теория радиозащиты при поддержке большинства исследователей опиралась на возможность радиопротекторов перехватывать свободные радикалы, накапливаемые в водной клеточной среде после радиационных воздействий. Вспоминая ликбез, освоенный в ЭПР-ной деятельности, и с учетом непродолжительного срока, установленного Бреслером для моей научной реабилитации (максимум два года), я обрушил весь накопленный гнев на «постылые» свободные радикалы. Используя мутанты *Esherichia coli*, несущие дефекты по ферментам репарации, я достаточно быстро, в течение одного года, сумел продемонстрировать полную несостоятельность радикальной теории радиозащиты: репарационные мутанты не защищались от радиации как в присутствии тиольных, так и аминсодержащих радиопротекторов. На основе полученных результатов была отвергнута теория перехватчиков радикалов и предложена модель генетической детерминации радиозащиты. Достигнутый успех для меня был определен двумя обстоятельствами:

- серия исследований без проволочек была опубликована в престижных зарубежных журналах (*Mut. Res.*, *M. G. G.*, *Int. J. Rad. Biol.* и др.);
- Бреслер настолько был удовлетворен достигнутыми успехами, что с 1972 года и до ухода из жизни его совместные публикации выходили только с моим участием (более 10 статей в ведущих международных журналах).

В эти же годы по инициативе С. Е. Бреслера и позже В. Н. Фомичева были запущены в реализацию две инновационные программы:

- организация Зимних школ ПИЯФ по молекулярной биологии;

• привлечение внебюджетных инвестиций на организацию прикладных исследований под задачи Главмикробиопрома и Третьего главного управления при Минздраве СССР. Здесь важно подчеркнуть, что для достижения успеха требовались координированные усилия по разработке новых биофизических методик и взвешенному анализу этих достижений для внедрения в практическую деятельность не только медицинских, но и социальных программ, а также учебных заведений страны.

Не стану подробно излагать все оценки наших успехов, а ограничусь только перечнем учебных пособий и методических рекомендаций, изданных с участием наших сотрудников в кооперации с ориентированными на практику научными коллективами.

В качестве напутствия последователям в направлении плодотворной внедренческой деятельности еще раз подчеркну, что успешность достижима только тогда, когда прикладная направленность научной деятельности перестает быть вынужденным придатком фундаментальных исследований, а переходит, наряду с последними, в ранг основного предназначения научного творчества.

Монографии (Л. А. Носкин, В. А. Носкин, С. Б. Ланда)

1. Полисистемный саногенетический мониторинг. М., 2001. 344 с.
2. Педагогическая санология. М., 2005. 224 с.
3. Мониторинг функционального состояния здоровья школьников. М., 2004. 152 с.
4. Неинвазивные методы в оценке здоровья населения. М., 2006. 316 с.
5. Комплексный подход к диагностике состояния кардиореспираторной системы у спортсменов. Одесса, 2011. 256 с.
6. Руководство по школьной медицине: клинические основы. М., 2011. 640 с.

Методические указания и рекомендации

1. Исследование психомоторной деятельности при оценке влияния образовательных технологий на здоровье детей и подростков. М., 2001.
2. Исследование саногенетического статуса детей и подростков в процессе образовательной деятельности. М., 2001.
3. Экспертиза нарушений осанки детей и подростков при оптической топографии позвоночника в условиях образовательных учреждений. М., 2008.
4. Оценка влияния образовательных технологий и внутришкольной среды на здоровье детей и подростков. СПб., 2011.

К истории создания Лаборатории биосинтеза белка

А. А. Коневега

Начало второй половины XX века ознаменовалось бурным развитием молекулярной биологии. Семен Ефимович Бреслер, заведующий лабораторией полимеров Института высокомолекулярных соединений АН СССР, отчетливо понимал актуальность работы в этом направлении и, вернувшись из командировки в США, во время которой посетил большинство ведущих лабораторий этого направления, получил официальное разрешение сменить свою тематику на биополимерную. Это положило начало изучению механизма биосинтеза белка Р. А. Граевской (м. н. с.) и аспирантом С. В. Кирилловым в составе группы Е. М. Саминского (м. н. с., к. ф.-м. н.).

На этом этапе информации о структуре и функции рибосомы было крайне мало. Дж. Уотсон установил, что при понижении концентрации ионов магния бактериальная рибосома диссоциирует на две субчастицы, состоящие из РНК и белков. Некоторое время ошибочно полагали, что в состав рибосомы входит лишь один структурный белок, т. к. изучение рибосомных белков показало, что все они начинаются с метионина. Была очевидна значительная роль РНК (транспортной, матричной и рибосомной) в синтезе белка, чему и посвятил свою лекцию Дж. Уотсон на вручении ему Нобелевской премии в 1962 году за установление структуры ДНК. Согласно озвученной им модели на рибосоме находилась одна пептидильная транспортная РНК (тРНК) с присоединенным к ней растущим полипептидом, тогда как аминоацилированная тРНК плавала в растворе. Но уже в 1964 году стало ясно, что на рибосоме должно быть не менее двух сайтов для связывания тРНК. В результате Дж. Уотсон и Ф. Липман создали схему элонгации с двумя сайтами для связывания тРНК (Р-сайт, удерживающий пептидил-тРНК, и А-сайт, связывающий очередную аминоацил-тРНК) и концепцией транслокации (перемещение тРНК после каждого акта образования пептидной связи с одновременным продвижением мРНК на три нуклеотида и диссоциацией деацилированной тРНК в раствор). В 1963 году У. Гилберт, работая в лаборатории Дж. Уотсона, выделил синтетическую полифенилаланил-тРНК. В это же время в группе Е. М. Саминского было освоено приготовление бесклеточной системы синтеза белка на эндогенной природной матричной РНК (мРНК) с радиоактивными аминокислотами, в результате чего стало возможным выделить природную

пептидил-тРНК и изучить ее свойства (Биохимия. 1964. Т. 29. С. 353–362; *Biochim. Biophys. Acta*. 1966. Т. 123. С. 534–545; *Кириллов С. В.* дис. ... канд. физ.-мат. наук, 1967).

В 1963 году С. В. Кириллов был принят в Радиобиологический отдел филиала ФТИ им. А. Ф. Иоффе и назначен заместителем заведующего сектором молекулярной биологии. В состав этого сектора вошли как ученики С. Е. Бреслера – В. Н. Фомичев, В. М. Крутяков, В. Л. Калинин, С. Н. Нарыжный, так и ученые других школ – Л. А. Носкин (к. м. н.), М. Л. Беккер (д. м. н.), Л. Е. Драбкина (к. х. н.). Эти люди возглавляли разные направления при научном руководстве Бреслера. Именно они и их коллективы составили костяк современного Отделения молекулярной и радиационной биофизики. В 1978 году, когда число научных сотрудников в секторе превысило 40 человек, была выделена группа биосинтеза белка, которая впоследствии стала Лабораторией биосинтеза белка.

С. Е. Бреслер предложил заняться изучением термодинамики взаимодействия тРНК в разных состояниях рибосомы, т. к. стало понятно, что цикл элонгации состоял из последовательного взаимодействия тРНК с разными рибосомными центрами. Е. М. Саминский, Р. А. Граевская и В. Б. Одинцов начали работу в системе, состоящей из рибосом или рибосомных субчастиц без матричной РНК, что позволило измерить базальное взаимодействие тРНК с рибосомой. Был разработан метод измерения констант связывания путем седиментации комплексов в равновесных условиях и измерены константы связывания деацелированной тРНК с 50S (*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1972. V. 46. P. 1106–1112) и 30S субчастицами (*FEBS Lett.* 1973. V. 33. P. 11–14; дисс. канд. физ.-мат. наук, 1976) без мРНК. Было показано, что аминокислотированная тРНК имеет в 7 раз меньшее сродство к сайту на 50S субчастице. Это были первые достоверные количественные данные о взаимодействии тРНК с субчастицами рибосом.

В 1963 году был описан первый сайт связывания тРНК на 50S субчастице (*Cannon V., Krug R., Gilbert W. // JMB.* 1963. V. 7. P. 360–378). Он был ошибочно принят за Р-сайт, хотя на самом деле оказался выходным Е-сайтом. По иронии судьбы Е-сайт стал первым изученным сайтом рибосомы, который ввели в схему элонгации последним в 1980-е годы.

В 60-е годы в большинстве лабораторий 30S субчастицы связывали не более 0,35 молекулы Phe-тРНК в присутствии мРНК, состоящей из повторяющихся фенилаланиновых кодонов. Только 10–15 % 70S рибосом были активны в синтезе полипептидов, а суммарное свя-

зывание тРНК с наиболее активными, так называемыми прочными, 70S (tightcoupled 70S), рибосомами, всегда было меньше двух молекул на рибосому в полном соответствии с двухсайтовой моделью рибосомы. Интересной казалась работа, в которой было показано, что активные рибосомы из полисом эукариот связывают до 2,6 молекулы тРНК в процессе синтеза (*Wettstein F.O., Noll H. // JMB. 1965. V. 11. P. 35–53*). Однако эти данные не были подтверждены другими исследователями, т. к. большинство групп работало с рибосомами бактерий.

В гатчинской лаборатории при выполнении работ по выделению пептидил-тРНК и измерению термодинамических параметров взаимодействия тРНК с 70S рибосомами и 30S субчастицами в присутствии мРНК столкнулись с малой и к тому же изменяющейся от препарата к препарату активностью рибосом, гетерогенностью комплексов и частичной активностью тРНК. Поэтому С. В. Кириллов, а позднее Ю. П. Семенов и В. И. Махно начали проводить систематические исследования влияния условий выращивания клеток, способов разрушения клеток, соотношения одно- и двухвалентных ионов в буфере на обратимую и необратимую инактивацию субчастиц в процессе их выделения. В лаборатории стали использовать синтетические пептидил-тРНК, индивидуальные высокоочищенные тРНК и изучили причины инактивации рибосом и гетерогенности комплексов. Оказалось, что наиболее чувствительными к условиям выделения являются 30S субчастицы, на которых происходит связывание мРНК, а также узнавание и связывание аа-тРНК. В результате этой кропотливой работы к 1980 году получили 30S субчастицы, которые кодон-зависимо связывали две молекулы аминоктил-тРНК. Эти тРНК находились в А- и Р-сайтах, т. к. при добавлении 50S субчастиц в 90 % случаев происходил синтез дипептида (*Kirillov S.V. et al. // NAR. 1980. V. 8. P. 183–196*). Более того, с 30S субчастицами, содержащими две аминоктированные тРНК, дополнительно связывалась третья молекула тРНК, причем только деацилированная (*Kirillov S.V. et al. // FEBS Lett. 1983. V. 157. P. 91–94*). Группой Е. М. Саминского с использованием центрифугирования в равновесных условиях было показано, что выделенные 70S рибосомы связывают до 2,9 молекулы на рибосому и имеют третий сайт связывания тРНК, не совпадающий с А- и Р-сайтами и не имеющий кодон-антикодонного взаимодействия (Тезисы доклада на Всесоюзном симпозиуме «Реализация наследственной информации», август 1980; *Graevskaja R.A. et al. // Eur. J. Biochem. 1982. V. 128. P. 47–52*). Через месяц после сообщения Саминского на симпозиуме о наличии третьего сайта связывания тРНК на рибосомах появилась статья К. Ньерхауса

о наличии третьего матрично-зависимого сайта для связывания тРНК на прочных 70S рибосомах. Активность этого типа рибосом на тот момент не превышала 65–70 %, поэтому связывание трех молекул в этой работе явилось следствием неправильного учета фона при большом избытке меченой тРНК. Только в 1988 году мы описали метод выделения полностью активных прочных 70S рибосом, способных связывать три молекулы тРНК.

Группа К. Ниерхауса предложила ряд принципов (принцип эксклюзии в связывании пептидил-тРНК с А- и Р-сайтами) и новых моделей (аллостерическая модель и альфа-эпсилон модель) взамен классической модели Дж. Уотсона.

Результаты наших работ опровергли принцип эксклюзии и аллостерическую модель, которые базировались на ошибочной идентификации сайтов связывания и не учитывали обратимость транслокации. Из-за разногласий между нашей лабораторией и группой К. Ниерхауса о свойствах третьего сайта, основным из которых являлся вопрос наличия или отсутствия кодон-антикодонного взаимодействия, всеобщее признание и введение в схему синтеза белка третьего сайта затянулось почти на десять лет.

Часть 3

Научно-технические подразделения ОМРБ

Научно-технический отдел биоэлектроники

А. П. Роганов



Группа биоэлектроники под руководством В. В. Лаврова была создана в 1975 году. Основной ее задачей была автоматизация обработки экспериментальной информации с применением средств вычислительной техники, а также создание новых приборов и установок для биологических исследований. В 1977 году было составлено обоснование закупки для отделения ЭВМ М-4030. В 1978 году машина была получена, и началась подготовка к обработке с ее помощью экспериментальных

данных. С участием А. Л. Северикова и Г. В. Стабниковой был разработан и поставлен текстовый редактор на М-4030, что существенно облегчило работу на ЭВМ сотрудникам отделения.

В ОМРБ в это время (1979) проектировался и изготавливался радиоспектрометр ЭПР трехсантиметрового диапазона, для которого группа разработала цифровую систему регистрации спектров ЭПР и пакет программ их обработки, была создана библиотека спектров ЭПР. В этой работе принимали участие В. В. Лавров, Г. К. Анисимов, Е. И. Завацкий, Г. В. Стабникова. В результате методический уровень обработки данных в ОМРБ значительно возрос, цифровые методы регистрации стали широко использоваться в отделении и для других приборов и установок. Несколько позже был создан банк данных для секвенированных нуклеотидных последовательностей ДНК, проводились также работы для обработки данных рентгеноструктурного анализа белков.

В начале 1980-х годов появились новые задачи: проектирование и изготовление проточного цитофлуориметра для двухпараметрового анализа клеток и разработка программного обеспечения к нему (Н. В. Клопов), разработка аппаратуры и программного обеспечения для прецизионного измерения химических сдвигов ЯМР (Н. В. Клопов, И. Г. Носкина), модуля управления разверткой магнитного поля в ЭПР с системой стабилизации по магнитному потоку (Е. И. Завацкий) и т. д.

В 1983 году группа биоэлектроники была преобразована в Лабораторию автоматизации биофизического эксперимента (ЛАБЭ). Ее сотрудники А. Л. Севериков, А. П. Роганов, Т. Н. Белозерова, Н. А. Гудкова, А. Ф. Мешков обеспечивали бесперебойную работу ЭВМ. Далее было составлено техническое задание на приобретение универсального вычислительного комплекса СМ-1420, который поступил в ОМРБ в 1984 году. На его базе была создана система для подключения удаленных экспериментальных установок, благодаря которой данные с них попадали в СМ-1420, обрабатывались в режиме реального времени и отсылались обратно экспериментатору. К системе было подключено до 10 установок.

С 1985 года в ОМРБ стали поступать персональные компьютеры – сейчас в отделении их работает более 120. Создан свой сервер. В. П. Пачекин возглавил ЛАБЭ после В. В. Лаврова, тогда же лаборатория была преобразована в научно-технический отдел (НТО), в котором в конце 1980-х годов было разработано оборудование для осуществления полимеразной цепной реакции: источники питания для электрофореза и термоциклеры. Эти устройства прошли успешную апробацию не только в ОМРБ, но и в других молекулярно-биологических центрах Москвы, Новосибирска. В настоящее время НТО возглавляет А. П. Роганов.

Опытное производство

Р. П. Девятериков



Наши повседневные успехи в работе были бы немыслимы без ненавязчивых забот со стороны технологической службы (ТС) ОМРБ (ныне опытного производства – ОП). Приведу лишь один пример: к середине 1980-х годов готова была по своей ветхости выйти из строя система отопления корпуса 50. Тогда же замдиректора ОМРБ В. Г. Гудков убедил руководство отделения и организовал работы силами нашей ТС по полной замене системы отопления. Первая же последовавшая зима оказалась рекордно холодной, и многие корпуса ЛИЯФ были по крайней мере на полгода выведены из строя этими морозами, но не корпус 50: для нас такой возможный плачевный исход грозил потерей препаратов, наработанных в течение многих лет.

Позже в связи с изменением баланса исследований в пользу молекулярно-биологических и биофизических назрела необходимость кардинальной реконструкции рабочих помещений в отделении, что тоже осуществлялось исключительно силами ТС – активное участие в этой работе принимали С. П. Мельников, Р. П. Девятериков, А. Ф. Туев, В. И. Шарыгин, О. Л. Крашинский и другие сотрудники службы. В результате рабочая площадь в бывшей «грязной» части корпуса увеличи-

лась на треть, удалось разместить установки лазерной корреляционной спектроскопии, а также Лабораторию физики кристаллов Отделения нейтронных исследований, с которой выполнялись с тех пор совместные работы.

Нельзя не отметить В. П. Петрову, на плечах которой лежит забота об общем хозяйстве ОМРБ, а также самоотверженный труд заведующей виварием Л. Г. Пиманенок. Сегодня рутинная, но ритмичная жизнь в отделении поддерживается существенно меньшими силами, чем в прежние тучные годы: с электрохозяйством корпуса справляется А. Е. Кошевенко, с водным – Г. В. Хачерсян и О. Л. Крашинский, а за соблюдением радиационной безопасности многие годы следят А. В. Вожов и Л. А. Малахова. Надежную эксплуатацию огромного парка холодильного оборудования обеспечивает Б. М. Шамаров.

От лица всех сотрудников отделения выражаю признательность ОП за теплую заботу и решение текущих проблем ОМРБ.

Часть 4

Прикладные достижения ОМРБ

Введение

Большое внимание в ОМРБ уделялось и уделяется прикладным исследованиям. С. Е. Бреслер полушутливо, а может быть, и всерьез считал, что сотрудники Академии наук относятся к той категории людей, которая удовлетворяет за государственный счет собственное любопытство к познанию порядка вещей в природе, и поэтому, когда в ходе фундаментальных исследований просматривается выход на полезные для страны приложения, этим всегда следует заниматься тщательно и серьезно. Так, в 1952 году в Лаборатории биополимеров С. Е. Бреслер и Г. В. Самсонов внедрили важнейший для страны процесс по очистке антибиотика стрептомицина с помощью ионообменной хроматографии, еще нигде в промышленности до того не применявшийся. К концу 1960-х годов на кафедре биофизики ЛПИ Бреслером разворачиваются работы по хроматографической очистке вирусов для производства вакцин. В 1971 году была создана первая инактивированная вакцина против гриппа, которая с легкой руки президента АН СССР была названа «бомбой против гриппа». Этот способ в 1975 году был запатентован в девяти странах, включая Германию, Францию, США и Японию. После обнаружения в 1967 году за рубежом у комплексов полирибонуклеотидов способности индуцировать синтез интерферона в клетках млекопитающих по инициативе С. Е. Бреслера в Лаборатории биополимеров были начаты исследования по разработке синтеза комплексов поли(Г) – поли(Ц) с последующим изучением его интерферониндуцирующей и противовирусной активности. Дело в том, что зарубежные высокоактивные комплексы поли(И) – поли(Ц) обладали, к сожалению, очень высокой токсичностью, видимо, за счет минорного нуклеотида И, а менее токсичные комплексы поли(А) – поли(У) проявляли и более низкую активность, синтезировать же комплексы поли(Г) – поли(Ц) никто не умел. После синтеза этого комплекса А. Л. Тимковским были

определены условия взаимодействия цепей поли(Г) и поли(Ц), исследованы основные структурные параметры, определяющие биологическую активность этого комплекса, которая существенно возростала при непродолжительном нагреве комплексов при 100 °С. Разработанные препараты прошли испытания в Институте вирусологии РАМН.

Группа Г. А. Багияна, исследуя каталитическое окисление радиопротекторов аминотиолов, обнаружила эффективное окисление меркаптанов в присутствии в водных растворах комплексов меди с аминотиолами, что послужило основой для создания нового способа очистки нефтепродуктов от вредных серосодержащих примесей – меркаптанов. С 1979 года, после обсуждения этих эффектов на ученом совете ОМРБ, С. Е. Бреслер принимал самое активное участие на разных этапах работы, организовав в начале 1980 года рассмотрение этой разработки в головных институтах нефтехимической отрасли, где и были проведены совместные лабораторные испытания катализаторов, по результатам которых было рекомендовано организовать их промышленные испытания на действующих установках отрасли. Испытания были проведены на нефтехимкомбинатах в Салавате и Новокуйбышевске в 1980–1981 годах, где были продемонстрированы серьезные преимущества разработанных в ЛИЯФ катализаторов. На состоявшейся весной 1981 года коллегии Министерства нефтехимической промышленности была принята программа внедрения в отрасль катализаторов ЛИЯФ, которая, правда, в министерстве не стала реализовываться. Преодолеть отраслевую рутину на соответствующих верхах мог только человек с авторитетом Бреслера, но его безвременная кончина остановила дальнейшее развитие этой разработки. Исследование реакционной способности серосодержащих органических соединений явилось базой для двух других прикладных работ этой группы: в конце 1990-х годов впервые на пространстве СНГ был разработан способ синтеза меченных изотопом S^{35} дезоксирибонуклеотидов высокой удельной активности для секвенирования ДНК. Кроме того, разработан способ анализа плазмы крови на содержание в ней гомоцистеина, который имеет преимущества перед существующими, что позволяет определять разные молекулярные формы гомоцистеина, а не только его тотальную концентрацию.

Синтез меченых S^{35} -нуклеозид- $5'$ -тиотрифосфатов

Н. В. Сорока

С появлением в 1983 году в биотехнологической практике полимеразной цепной реакции (ПЦР) значительно возросла потребность в меченых нуклеозидтрифосфатах высокой удельной активности. Чаще всего они применялись для получения радиоавтографов с электрофоретически разделенных на пластине фрагментов ДНК, в которые предварительно включалась в ходе ПЦР радиоактивная метка. В коммерческих масштабах радиоактивно меченые нуклеозидтрифосфаты производились меченными по фосфору: вместо природного изотопа P^{31} синтезировались нуклеозидтрифосфаты, в молекулах которых один из атомов фосфора был замещен на изотоп P^{32} или на P^{33} . Такие препараты стоили довольно дорого.

Кроме меченных по фосфору нуклеозидтрифосфатов в мире производились также меченные по сере нуклеозидтиотрифосфаты, в молекулах которых один из атомов кислорода был замещен на атом S^{35} . Стоимость их была близка к стоимости препаратов, меченных изотопом P^{32} , и более чем в два раза ниже меченных P^{33} соединений. Их применение было возможным, т. к. во многих случаях в биологических исследованиях по свойствам они мало отличаются от нуклеозидтрифосфатов, а преимущество их состоит в том, что, во-первых, период полураспада у S^{35} составляет три месяца, позволяя исследователю работать без особой спешки, тогда как у P^{32} он составляет 14 суток, а у P^{33} – 25, т. е. по прошествии соответственно одной и двух недель теряется значительная часть исходных препаратов.

Кроме того, полученное излучение от S^{35} позволяло получать очень четкие, не диффузные по краям радиоавтографы, т. е. более высокое разрешение по сравнению с меченными P^{32} нуклеотидами, т. к. ионизирующие частицы, возникающие при распаде P^{32} , имеют большую длину свободного пробега. Сравнение с радиоавтографами ДНК-фрагментов от P^{33} -нуклеозид-(α)-трифосфатов показало столь же высокое качество в случае использования препаратов, меченных изотопом S^{35} .

Поставленную задачу получения S^{35} -нуклеозид-(α)-тиотрифосфатов практически без изотопного носителя (когда все атомы серы в молекуле радиоактивны; приводя к препаратам с удельной активностью около 1 500 Ки/ммоль) проще всего можно было решить, следуя методу Экштейна (Институт экспериментальной медицины Общества Макса

Планка), в котором для синтеза нерадиоактивных нуклеозидтрифосфатов применяют элементарную серу. Небольшие количества таких нуклеотидов были любезно предоставлены нам самим автором этого метода, и они использовались нами далее в качестве реперных соединений. Было ясно, что если радиоактивный атом серы получать в виде элементарной серы, то задача синтеза S^{35} -нуклеозид-(α)-тиотрифосфатов в общих чертах будет решена.

Обычно для получения изотопа S^{35} кристаллы хлорида натрия или калия облучают нейтронами. При этом кристаллы подвергаются действию сопутствующего сильного ионизирующего облучения, которое создает в них отрицательные и положительные центры, являющиеся восстановителями и окислителями. Образовавшиеся в результате ядерной реакции атомы S^{35} взаимодействуют с этими центрами, давая соединения серы в разной степени окисления. После растворения таких кристаллов в воде большая часть серы получается в виде сульфата.

Сделать из сульфата элементарную серу в макроколичествах довольно легко, но очень трудно в микроколичествах. В мире ее до сих пор, видимо, не умеют делать, т. к. в продаже есть только сильно разбавленная (примерно в тысячу раз) нерадиоактивным изотопом сера. Необходимо было разработать предельно простой способ, т. к. сложные химические процедуры резко повышают класс радиационной опасности. Кроме того, при работе с микроколичествами в случае сложных химических процедур трудностей добавляет сорбция на стенках сосудов и микрозагрязнения в используемых реагентах.

Приемлемое решение было найдено, когда мы облучали в реакторе кристаллы хлорида натрия с введенными в их кристаллическую решетку добавками, увеличивающими содержание в кристаллах F-центров. При этом сера в процессе облучения образовывалась большей частью не в виде сульфата, а в виде сульфида, который легко переводится в элементарную серу прямо в той пробирке, куда помещали кристаллы после облучения. Радиохимические выходы полученной элементарной серы S^{35} составляли 50–100 % от теории, давая, соответственно, выходы оптического изомера А целевых нуклеотидов от 25 до 50 %. В итоге нами в 1996–1998 годах были синтезированы А-изомеры S^{35} -нуклеозид-(α)-тиотрифосфатов с удельной активностью 1000–1200 Ки/ммоль, которые были с успехом использованы в институтах Российской академии наук Москвы, Санкт-Петербурга, а также Новосибирска в опытах по секвенированию ДНК.

Более того, нами был синтезирован меченый S^{35} монотиотрифосфат натрия, который в сотрудничестве с Институтом молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН планировалось использовать для мечения изотопом S^{35} нуклеозидтиотрифосфатов избирательно в α -, β - и γ -положениях фосфатных групп. Предстояло также запатентовать наш способ получения S^{35} -нуклеозид-(α)-тиотрифосфатов. Однако реализации этих планов помешали как внутренние обстоятельства – уменьшение кадрового состава группы, так и внешние – бурное развитие ДНК-секвенирования с использованием флуоресцентно-меченых нуклеотидов, завершившееся появлением в самом конце 90-х годов установок автоматического секвенирования ДНК.

Синтез йодфолатов, меченных радиоизотопами йода

Н. В. Сорока, В. И. Безносюк

С 2006 года в ОМРБ ПИЯФ проводятся исследования, имеющие целью определить возможности применения в рамках программы «Ядерная медицина» изотопов, производимых на существующих в Институте установках, а также тех, получение которых будет освоено в ближайшее время в связи с завершением строительства в ПИЯФ НИЦ «Курчатовский институт» циклотрона с энергией протонов 80–200 МэВ. Одним из направлений этих исследований следует назвать разработку синтеза радиоактивно меченных производных йодфолиевой кислоты и возможность их применения для диагностики злокачественных образований.

В литературе было предложено немало радиофармпрепаратов, в которых к молекуле фолиевой кислоты присоединены различные довольно крупные молекулы (чаще всего тирозин), в которые сравнительно легко ввести радиоактивную метку. Такие препараты используются для диагностики в однофотонной томографии либо в ПЭТ-томографии и дают хорошие результаты при выявлении злокачественных опухолей. Однако только в том случае, если выявляемая опухоль содержит так называемые фолатные рецепторы на поверхности клеток: обычно крупные заместители, присоединенные к молекуле фолиевой кислоты, не являются помехой, и радиофармпрепарат прочно связывается с поверхностью раковой клетки, позволяя обнаружить опухоль.

Проблема, однако, состоит в том, что заранее никогда неизвестно, будут ли клетки конкретной опухоли содержать большое количество фолатных рецепторов. Даже опухоли одного типа у разных людей могут содержать либо не содержать вовсе фолатные рецепторы. В связи с этим в диагностике опухолей факт отсутствия связывания радиофармпрепарата с рецепторами на клеточной поверхности еще не означает отсутствия опухоли и требует дополнительного подтверждения. Описанные в литературе эксперименты с меченой тритием фолиевой кислотой показали, что помимо связывания с поверхностью клеток фолиевая кислота и в особенности восстановленные ее формы способны проникать внутрь клетки, причем и в этом случае раковые клетки обладают избирательным повышенным их поглощением (за исключением редких типов резистентных клеток, появляющихся иногда после химиотерапии, проводимой с помощью антифолатов). Для проникновения внутрь клетки, в отличие от связывания с поверхностью, крупные заме-

ститители, присоединенные к фолиевой кислоте, являются помехой. В литературе описаны попытки получить препарат фолиевой кислоты (точнее, ее производного – аминоптерина), в котором радиоактивный атом йода введен прямо в молекулу. Ранее другими авторами были получены неудовлетворительные результаты: малый и нестабильный при повторных экспериментах процент выхода по радиоизотопу (около 5 %), низкая удельная активность (в публикации были приведены данные с разбросом 50–300 мкКи/мкмоль) и большое время проведения реакции (18 ч). Последнее обстоятельство особенно важно, если работать с короткоживущими или ультракороткоживущими изотопами.

В сотрудничестве нескольких лабораторий в ОМРБ разработан метод получения йодфолиевой кислоты, меченной изотопом I^{125} с удельной активностью вплоть до предельно высокой (т. е. без изотопного носителя) – для I^{125} это 2 Ки/мкмоль. Концентрация фолиевой кислоты в крови составляет $2 \cdot 10^{-8}$ моль, поэтому важно иметь высокую удельную активность. Выходы по радионуклиду в нашем методе составляли около 50 %. Время осуществления синтеза – 15–20 мин, а вместе со стадиями очистки – около 3 ч. На этот способ синтеза нами получен патент на изобретение. В последовавших биологических экспериментах оказалось, что полученные препараты, меченные изотопом I^{125} , оказались более удобными (по сравнению с промышленно производимыми мечеными тритием препаратами фолиевой кислоты) для проведения биологических экспериментов на клеточном и особенно на организменном уровне. Полученный нами препарат, меченный I^{125} , следует рассматривать как удобную модель для проведения предварительных работ.

Для практического применения в однофотонной эмиссионной томографии I^{125} следует заменить на изотоп I^{123} , а для позитронной эмиссионной томографии – на I^{124} или на I^{121} . Разработанная нами методика позволяет это сделать.

В 2013 году было повторно проведено исследование распределения меченной I^{125} формилтетрагидрофолиевой кислоты в организме крыс, которым была привита глиома (опухолевые клетки головного мозга, составляющие 10–15 % всех разновидностей рака). В этот раз применение нового хроматографического оборудования позволило получить препарат более высокой радиохимической чистоты. С этим препаратом был получен более высокий радиоконтраст (отношение удельной активности препарата в опухоли к удельной активности препарата в окружающих тканях): в первом случае радиоконтраст составляет примерно 10, а во втором, соответственно, 20. Следует отметить, что величина радиоконтраста очень важна для томографии: чем больше эта величина

на, тем на более ранней стадии может быть выявлена опухоль. Кроме того, можно использовать меньшее количество радиофармпрепарата, что уменьшает лучевую нагрузку на организм. Когда радиоконтраст достигает очень больших значений не только локально, но и по всему организму, препарат можно использовать не только для диагностики, но и в радиотерапии опухолей.

Эксперименты на животных показали, что радиоконтраст для нашего препарата в случае привитой глиомы во много раз выше, чем приводимый в литературе радиоконтраст широко используемого в диагностике опухолевых образований препарата дезоксифторглюкозы, меченной изотопом F^{18} . Поскольку повышенное потребление глюкозы головным мозгом маскирует эффект повышенного потребления глюкозы раковыми клетками, то это обстоятельство делает невозможным применение дезоксифторглюкозы для выявления глиомы с помощью ПЭТ-томографии. Следует указать, что приведенные нами результаты получены путем препарирования животных на небольшие пробы. Однако для выявления практической значимости необходимо проведение экспериментов с использованием ПЭТ-томографа. При этом могут проявиться более точные и подробные особенности распределения радиоактивности по органам и тканям организма животных.

Можно ожидать, что меченая дийодфолиевая кислота даст более высокий радиоконтраст по сравнению с монойодфолиевой кислотой. Отметим, что если монойодфолиевая кислота известна давно и наше достижение состояло лишь в том, что мы получили ее меченной изотопами йода, то дийодфолиевая кислота была синтезирована нами впервые в мировой практике. (В 1953 году был выдан патент на ее синтез, однако работы других авторов показали, что в заявленном способе получается монойодфолиевая кислота. Позднее об этом же сообщили и сами авторы патента.) Наши исследования позволили объяснить причину неудачи и наметили пути ее устранения. В 2013 году в лаборатории проведено изучение кинетики реакции иодирования монойодфолиевой кислоты с целью разработки метода получения меченной изотопом йода дийодфолиевой кислоты. Простое перенесение разработанного нами метода получения немеченой дийодфолиевой кислоты на синтез ее радиопрепарата в данном случае невозможно, т. к. в случае получения немеченого соединения работа проводится обычно с граммовыми количествами, а в случае меченого – с миллионными долями грамма. Это может приводить к качественно иным кинетическим закономерностям. Проводимые в настоящее время исследования позволяют считать, что эта задача будет решена.

Вышеприведенные достигнутые значения радиоконтрастов в предварительных экспериментах с мечеными йодфолиевыми кислотами располагают к синтезам и исследованию более широкого круга радиофармпрепаратов на основе производных фолиевой кислоты, таких, например, как йодзамещенные метотрексата, аналога фолиевой кислоты, известного как противоопухолевый препарат, тормозящий в клетках образование тетрагидрофолиевой кислоты. Проведение таких экспериментов и развитие этого направления требуют использования специфического и дорогостоящего оборудования (порядка 5–10 млн долларов), которого нет в настоящее время в Институте, но в комплексах ядерно-физических методов диагностики (КЯФМД) НИЦ «Курчатовский институт» существует именно такая уникальная технологическая линия: циклотрон – автоматический программируемый синтезатор радиоактивных препаратов – хроматографическая система для очистки и анализа целевых препаратов – ПЭТ-томограф для изучения распределения радиоактивности по органам и тканям животных. Наиболее эффективное развитие этого направления может быть осуществлено при сотрудничестве ОМРБ и КЯФМД НИЦ «Курчатовский институт» с перспективой диагностики некоторых опухолей (в первую очередь глиомы).

Таким образом, предложенные новые зонды могут быть использованы в различных приложениях в онкологии, включая, но не ограничивая диагностику опухоли использованием йодофолатов, меченных I^{123} и I^{125} в варианте однофотонной эмиссионной компьютерной томографии, I^{121} и I^{124} для ПЭТ-визуализации опухолей, а также в терапии – препараты, меченные изотопами I^{131} и At^{211} . Наши новые зонды помогут в визуализации не детектируемых в настоящее время опухолей. Более быстрое продвижение в этом предварительном этапе проекта возможно при тесном сотрудничестве с КЯФМД НИЦ «Курчатовский институт» с использованием вышеуказанной его современной технологической базы для синтеза радиофармпрепаратов и томографического изучения их распределения в органах и тканях мелких животных.

В перспективе возможен синтез бромфолиевых и особенно астатфолиевых кислот для диагностики, а возможно, и терапии опухолей. Такие исследования помогут установить, являются ли полезные для медицины особенности йодфолиевых кислот общими и для других галогенопроизводных фолиевой кислоты, а также выявить их недостатки и преимущества.

Разработка метода лазерной корреляционной спектроскопии

С. Б. Ланда

В 1997 году в Лаборатории медицинской биофизики был создан лазерный корреляционный спектрометр ЛКС-03 для определения субфракционного состава биологических жидкостей. В 2010 году этот прибор был утвержден Комитетом по новой медицинской технике Министерства здравоохранения РФ в качестве изделия медицинского назначения. В методе динамического светорассеяния (ДСР) анализ спектров рассеяния – это типичная обратная спектральная задача, в которой по интегральному спектру надо выяснить «состав участников», давших вклад в этот интегральный спектр. По сути дела, единственный корректный способ ее решить связан с регулярными математическими методами и родственными им (например, метод невязки).

В 1983 году нами была создана одна из первых успешно работающих процедур регуляризации, позволяющая определить вклад в интегральный спектр соответствующих рассеивателей. Таким образом, в результате измерения спектра рассеяния можно получить распределение по размерам частиц, составляющих исследуемый раствор. При этом по оси ординат определяется процентный вклад частиц в светорассеяние, а по оси абсцисс – их размеры (в нанометрах). Каждая гистограмма формируется управляющей программой спектрометра и состоит из 32 столбцов. Количество столбцов отражает число учитываемых субфракций молекул при обработке (минимизации) спектра. Почти 30-летнее использование этого метода регуляризации, многочисленные его проверки в реальных и модельных экспериментах показали его адекватность при восстановлении даже 3-, 4-модального распределения, а также при восстановлении распределения по размерам полидисперсных образцов.

К началу 90-х годов стало ясно, что установка громоздка и сложна в юстировке и не удовлетворяет требованиям, предъявляемым к медицинским приборам. Сохранив все преимущества своего предшественника: гетеродинную оптическую схему, регистрацию спектра флуктуаций, вместо корреляционной функции и др. за счет использования оригинальных решений в оптической схеме и новых (на тот момент) гелий-неоновых лазеров ЛГН-205, удалось существенно уменьшить размеры и вес установки. Появление персональных ЭВМ типа IBM PC позволило создать новое программное обеспечение в среде Windows, отличающееся дружественным интерфейсом.

Несмотря на технические сложности прибора с реализацией гетеродинной схемы, он хорошо подходит для мониторинговых исследований биологических жидкостей, которые всегда полидисперсны. Важным требованием при создании переносного прибора является его компактность, что подразумевает не только снижение габаритных параметров, но и использование для связи с компьютером интерфейсов, не требующих непосредственного подсоединения к шине компьютера (USB, IEEE1394 и т. п.). Серийно выпускаемый спектрометр стыкуется с компьютером по шине USB и имеет габариты, позволяющие перевозить его в небольшом кейсе.

В настоящее время метод ДСР довольно успешно используется в клинической диагностике различных заболеваний: при диагностике миастении и миастенических синдромах; в экспресс-диагностике тяжести течения ургентных состояний по оценке гомеостаза методом лазерной корреляционной спектроскопии (ЛКС); в оценке диагностической значимости метода ЛКС при воспалительных и опухолевых заболеваниях легких; а также в мониторинговых исследованиях состояния здоровья больших групп населения; в идентификации характера обменных сдвигов у лиц разных профессий, контактирующих с источником ионизирующего излучения в условиях Крайнего Севера; в использовании метода ЛКС при массовых обследованиях населения с повышенным риском воздействия ксенобиотиков (работающих в химической промышленности и проживающих в экологически неблагоприятных районах) с целью выявления ранних и донозологических признаков интоксикации; в полисистемной оценке состояния саногенеза работников предприятий ядерно-топливного цикла; при определении субфракционного состава мочи у больных сахарным диабетом 2-го типа; при применении метода Data Mining в процессе оптимизации диагностического алгоритма с применением новых информационных технологий. В составе комплекса для саногенетического мониторинга лазерный корреляционный спектрометр ЛКС-03 в 2004 году был награжден большой золотой медалью выставки «Неделя высоких технологий в Санкт-Петербурге» и в 2005 году – дипломом на выставке «Высокие технологии XXI века» в Москве.

К середине 1980-х годов Лабораторией биофизики макромолекул был заключен хозяйственный договор с Государственным оптическим институтом им. С. И. Вавилова на разработку модуляционного ЭПР-спектрометра с автоматической системой управления установкой, регистрации и обработки спектров, который, в связи со своей высокой чувствительностью, позволял работать в водных растворах. В рамках

договора было закуплено два ЭПР-спектрометра в традиционном исполнении у польской фирмы «Радиопан» (нужен был качественный магнит) и изготовлено, соответственно, две установки – одна из них после окончания срока действия договора осталась в ОМРБ для обеспечения собственных исследований. Этот трехлетний договор был заключен на сумму 2 млн рублей, и немалая его часть была использована для текущих нужд ОМРБ и Института.

В заключение следует отметить, что достижения ОМРБ опираются на фундамент оригинальных и изящных методических разработок, рассыпанных по разным лабораториям отделения, которые куются такими талантливыми сотрудниками, как В. И. Махно, Н. В. Сорока, А. В. Суслов, С. И. Степанов, О. К. Кабоев, Ю. В. Киль.

Интеграция науки и образования

Ю. Н. Орлов

История нынешней кафедры биофизики физико-механического факультета (ФМФ) СПбГУ берет свое начало с кафедры технической физики, организованной в 1945 году, из которой в начале 50-х годов в свою очередь отпочковалась кафедра физики изотопов. Организация этой последней кафедры диктовалась необходимостью воспитания квалифицированных специалистов для бурно развивавшейся в то время ядерной физики, химии и ядерной энергетики. Возглавлял кафедру физики изотопов до самой своей кончины в 1969 году вице-президент АН СССР Б. П. Константинов (в то время директор ФТИ им. А. Ф. Иоффе АН СССР), а профессором кафедры долгие годы был С. Е. Бреслер, который создал в 1966 году на кафедре новую специальность «биофизика (молекулярная биология)». Бреслер и возглавил после Константинова в 1969 году кафедру физики изотопов. В науке его интересовал широкий круг вопросов в области физической химии природных и синтетических высокомолекулярных соединений, особенно в исследовании строения глобулярных белков, а также в начинающей в стране свои первые шаги новой отрасли – молекулярной биологии. Присущие Бреслеру энциклопедизм и лекторское мастерство стали залогом создания в 1950-е годы прекрасного курса лекций по радиохимии, на основе которых им была написана монография «Радиоактивные элементы», выдержавшая три издания.

Кафедра физики изотопов была базовой сначала для ФТИ, а затем, с 60-х годов, для его гатчинского филиала, ставшего в 1971 году Ленинградским институтом ядерной физики АН СССР. Достаточно упомянуть некоторых ее выпускников – В. А. Назаренко, А. И. Егорова, А. Н. Москалева, А. Н. Ерыкалова, Г. Д. Порсева, В. А. Трунова, В. Ю. Траутмана и других, ставших сотрудниками Института. С организацией в 1966 году на кафедре новой специальности «биофизика» кафедра физики изотопов стала базовой кафедрой Отделения молекулярной и радиационной биофизики ЛИЯФ. И, наконец, в 1974 году кафедра физики изотопов была преобразована в кафедру биофизики, и этот статус базовой для ОМРБ кафедры еще более укрепился. В течение многих лет кафедра возглавлялась сотрудниками ОМРБ: С. Е. Бреслером (1966–1979), В. Л. Калинин (1999–2003), В. А. Ланцовым (2006–2008) и Ю. Н. Орловым (2008–2014). Выпускники кафедры разных лет существенно пополняли штат лабораторий отделения. Большинство из них выполняли свои ди-

пломные работы именно в отделении, а некоторые входили или входят в состав руководства ОМРБ и лабораторий (Э. Н. Казбеков, В. Л. Калинин, С. В. Кириллов, В. А. Ланцов, Ю. П. Семенов, А. Л. Тимковский, В. Н. Фомичев, А. Л. Шварцман). За годы существования кафедры биофизики обучение на ней прошли более 600 студентов, работающих в настоящее время в разных областях науки и в разных странах мира. Сегодня на кафедре преподают 15 профессоров и 17 доцентов – ученых в области физико-математических, биологических, химических и медицинских наук, из них 11 человек – сотрудники ОМРБ. Кафедра биофизики осуществляет подготовку бакалавров направления «Физика» (профиль «Биохимическая физика») и магистров направления «Физика» по магистерской программе «Биофизика». Получая традиционно основательное физмеховское образование, студенты кафедры изучают такие специальные дисциплины, как биохимия, цитология, биотехнология, биофизика мембран, молекулярная генетика, иммунология, медицина и др.

Особенностью современного этапа развития молекулярной биологии является быстрый рост новых пограничных направлений, в которых могут найти применение специалисты самого разного естественно-научного профиля. Традиционные формы подготовки специалистов в этой области часто не успевают адаптироваться к требованиям современной науки и практики. Тесная интеграция науки и образования способствует внедрению новых форм обучения, поскольку значительно расширяет возможности студентов участвовать в научно-исследовательской работе. Исторически сложившиеся связи между ПИЯФ и СПбГПУ позволили создать на территории последнего в 1999 году по инициативе В. Н. Фомичева и В. А. Ланцова совместный научно-образовательный центр (НОЦ) «Биофизика», целью которого является вовлечение студентов младших курсов в фундаментальные научные исследования. ПИЯФ обеспечил НОЦ приборами и научным штатом, в основном из числа сотрудников Института, живущих в Санкт-Петербурге. До 2014 года в центре работал 21 сотрудник, 7 представляли лаборатории ОМРБ, а 8 человек входили в штат кафедры.

Благодаря этой структуре сотрудники ПИЯФ получили возможность активно включиться в учебный процесс, читая лекции, проводя лабораторные работы и осуществляя руководство бакалаврскими и магистерскими диссертациями студентов. Это способствовало приходу в последние годы в Институт заметного числа молодых способных исследователей. За 2006–2013 годы сотрудниками НОЦ и кафедр выполнено научно-исследовательских работ почти на 40 млн руб.

(финансирование через СПбГПУ); опубликовано 45 статей и 80 тезисов конференций в журналах, индексируемых Scopus и WEB of Science; издано 11 учебников по специальным курсам за счет средств грантов; подготовлено 28 бакалавров и 29 магистров; 12 выпускников кафедры стали сотрудниками ОМРБ. За время своего существования с 1999 по 2014 год НОЦ «Биофизика» успешно справился с главной своей задачей – выпуском специалистов, способных быстро подключиться к исследовательской работе. В настоящее время произошло фактическое объединение кафедры биофизики СПбГПУ и НОЦ на основе единых учебных планов и совместных научных исследований, которые проводятся со следующими академическими учреждениями:

- ОМРБ ПИЯФ НИЦ «Курчатовский институт» по темам: «Исследование эффективности защитных систем транспорта органических анионов проксимальных канальцев почки», «Молекулярное моделирование белков и их комплексов с ДНК и другими лигандами, моделирование процессов самопроизвольного сворачивания белков в нативную конформацию, а также рациональное конструирование ферментов с направленным изменением их термостабильности, активности и специфичности», «Изучение молекулярных основ явления гиперрекомбиногенности у бактерий и археобактерий», «Разработка алгоритмов неинвазивной ранней диагностики онкологических заболеваний желудочно-кишечного тракта на основе молекулярно-генетического анализа фекальной ДНК и масс-спектрометрического анализа белков плазмы крови», «Выяснение роли количественного и функционального баланса белков р53-семейства в развитии опухолей», «Сравнение иммунного статуса человека в норме и при различных патологиях с помощью биофизических подходов»;

- Институтом экспериментальной медицины РАМН: «Молекулярно-генетические механизмы поддержания гомеостаза меди в печени и мозге млекопитающих»;

- Институтом цитологии РАН: «Исследование молекулярных механизмов транспорта и инактивации цитотоксических комплексов платины в биологических системах».

Деятельность кафедры и НОЦ «Биофизика» на пути к интеграции была поддержана Аналитической ведомственной целевой программой «Развитие научного потенциала высшей школы (2006–2013)».

Зимние биологические школы ПИЯФ

Г. А. Багиян

Отдельную яркую страницу в жизни ОМРБ составляют Зимние биологические школы ПИЯФ, причем первые из них имели явную радиобиологическую направленность. Так, с середины 1960-х годов в Мозжинке проводились школы для молодых ученых по молекулярной биологии и генетике. Их организаторами и составителями программ были С. И. Алиханян, Р. В. Хесин и С. Е. Бреслер, которых школьники окрестили «тремя папами». Интересные лекции тщательно подобранных лекторов необычайно возбуждали умы молодых людей, только-только начинавших свой путь в совсем новой для страны науке. Однако постепенно это культовое место стало обязательно посещаемым для высокопоставленных академических функционеров, и прежний демократизм общения стал выветриваться. Спустя 10 лет моторные братья Носкины убедили С. Е. Бреслера в необходимости организации в окрестностях Ленинграда своей молекулярно-биологической школы, куда будут съезжаться лишь школьники и лекторы-учителя, действительно зараженные лихорадочным вирусом современной биологии. Способность Носкиных легко налаживать контакты в любой творческой среде гарантировала школьникам живую, интересную культурную программу. Одним словом, с 1977 года прежние радиобиологические школы были преобразованы в Зимние школы ЛИЯФ по молекулярной биологии, биофизике и генетике, которые в разные годы устраивались под Лугой, на Карельском перешейке или в Усть-Нарве. Эти Школы проводились раз в два года. В сложные для научной жизни России 90-е Школы не проводились, но с 2000 года их работа возобновилась – регулярно каждые два года, вплоть до 2008-го, последние состоялись в 2015 и 2016 годах.

Молодежь валом валила на Школы ЛИЯФ со всех концов великой страны, число участников не ограничивалось ее организаторами, и обычная их численность была в пределах 400–600 человек, что в сравнении с 200–250 участниками мозжинских школ говорило о большой популярности. По подбору лекторов обе школы были сравнимы, и притягательная сила Школ ЛИЯФ, видимо, заключалась в какой-то неуловимой атмосфере нерядового праздничного и доброго общения закаленных воинов науки с начинающими рыцарями ее. Возможно, что это была та самая атмосфера научного романтизма, которой еще в 1920–1930-х годах были одурманены умы наших замечательных физтеховских предков.



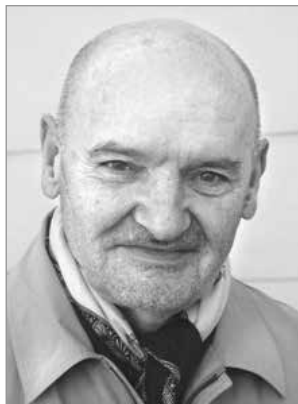
Зимняя школа – 2016: лекция академика И. А. Захарова



Зимняя школа – 2016: участники одной из горячих дискуссий.
Слева направо: А. Л. Коневега и А. Иоффе

Частный взгляд на историю ОМРБ

Г. А. Багиян



Г. А. Багиян

Трескучим морозным днем февраля 1966 года я вышел из автобуса на площадь перед филиалом ФТИ, расположенным в Орловой роще Гатчины. Время было обеденное, и навстречу мне гурьбой валил народ – кто в столовую, а кто и в Гатчину. Мне повезло: тут же из встречного потока меня окликнул однокурсник Гена Лемешко, которого я, конечно же, засыпал вопросами о возможном приложении сил в молекулярно-биологическом направлении Института. Он что-то зашептал мне на ухо, когда мимо нас проходил все еще молодой человек с восточным скуластым лицом и мягким, романтическим взглядом, одетый в вышедшую из моды черную шапку-«пирожок». Это был Олег Игоревич Сумбаев, для сотрудников Института того времени – просто Олег Сумбаев, и проходил он мимо нас на следующий день после защиты своей докторской диссертации, первой докторской диссертации с момента образования филиала ФТИ.

На территории Института, пройдя по Каминкер-штрассе мимо Главного физического корпуса, я свернул к корпусу 50, где располагался Радиобиологический отдел. Тогда вход в РБО был не со стороны фасада с парадной лестницей, а скромно располагался во флигелечке по соседству с виварием. Вхожу в небольшой предбанник, жарко натопленный трамвайной печкой и с густым парафиново-восковым запахом. У окна за столом восседает поблескивающий старомодными очками-кругляшами в железной оправе колоритный пышноусый дед Майор (это не прозвище, а настоящая его фамилия), облаченный в полосатую косоворотку. Этот старик веселого нрава по вечерам любил петь на рабочем месте (в поддании – очень громко), и никогда не сидел без дела – всегда приносил с собой на работу какое-нибудь рукоделие, чаще всего мастерил из цветных листочков, бумаги и воска искусственные цветы на продажу.

Дальше, прикрыв за собой дверь предбанника, прохожу в коридор цокольного этажа, и тут из ближайшей двери на меня выходит огромная кавказская овчарка. При малейших моих попытках двинуться по коридору в любую сторону раздается грозное рычание лохматого зверя. Этот

сюрплас друг против друга продолжался минут пять, пока на очередной рык кавказца из той же двери не появился любопытствующий хозяин собаки – Марк Левитин, спасший меня от дальнейших нервных издержек. Изложив цель своего приезда, я попросил его показать и рассказать о функционирующих лабораториях РБО.

Картина зимы 1966 года была такой: основательно развернулась и плодотворно работала Лаборатория радиационной генетики, была сформирована группа научной дозиметрии для обеспечения работ Лаборатории радиационной биологии, комплектовалась группа органического синтеза, задачей которой был синтез новых и традиционных радиопротекторов для изучения в РБО механизмов химической защиты организма от действия радиации. Существовала также группа молекулярной биологии под общим руководством С. Е. Бреслера, но большая часть формальных гатчинцев продолжала работать тогда в ленинградской части лаборатории, и только с появлением в 1967 году в РБО энергичных С. В. Кириллова и В. Н. Фомичева экспериментальная работа в этом подразделении закипела. На начало 1966 года в рабочих помещениях отдела было установлено общее технологическое оборудование (вытяжные шкафы, лабораторные столы), а в «грязной» части – уникальное специфическое оборудование для работы с радиоактивными веществами вплоть до первой категории радиационной опасности. По всем этажам «грязной» части сновали солдаты из стройбата, завершая отделочные работы.

В 1966–1967 годах практически закончился процесс наполнения РБО кадрами. В основном отдел пополнялся выпускниками кафедр биофизики ЛПИ, биофака и химфака ЛГУ, ЛТИ. В конце лета 1966 года в мужском, по сути, монастыре (особенно это бросалось в глаза в столовой Института) под названием «Филиал ФТИ» появился большой выводок симпатичных молодых выпускниц вузов Ленинграда. По дороге между 7-м и 50-м корпусами приятно было повстречать облаченных в модные серенькие костюмчики Свету Коннову (в замужестве Ковальцова) и Тамару Пушкареву, принаряженных в яркие платьица Надю Никанорову и Зину Карабанову и всех других наших молодых и энергичных коллег и помощниц. При их появлении в столовой унылая казарменная атмосфера всегда прореживалась всплесками галантности.

В связи с серыми костюмами вспоминается один забавный случай тех лет. Как-то поздней весной, отобедав, выхожу из столовой Института, разминувшись в дверях с упитанным курчавым субъектом в сером костюме. На подходе к РБО вижу, как из парадного входа корпуса появляется этот же человек. Признаться, я был в одинаковой степени оше-

ломлен этой дьявольщиной и озадачен своим психическим здоровьем. С этими мрачными мыслями ходить пришлось недолго: вечером того же дня мне навстречу по коридору корпуса шли два однойцовых близнеца в тех же одинаковых костюмах, шумно пикируясь смачными одесскими оборотами. Конечно же, это были братья Носкины.

Подводя итоги первых пяти лет становления РБО, можно отметить, что лаборатории отдела представляли собой острова, довольно далеко отстоявшие друг от друга, но на каждом из них шло накопление интеллектуальных сил, которые со временем превращают ремесленников в мастеров-профессионалов. В это время творческие межлабораторные контакты были довольно редкими. Главной темой гатчинской симфонии РБО было установление механизмов действия радиации и химической защиты от уровня биологически важных макромолекул до генетических последствий у прокариотических и эукариотических организмов. Над этим архипелагом гатчинских лабораторий РБО где-то высоко парила мощная лаборатория небожителей на стрелке Васильевского острова, возглавляемая суровым Громовержцем – блистательным Бреслером. Действительно, в Ленинграде, а возможно, и в СССР Лаборатория биополимеров была тогда самым сильным коллективом, работавшим в области молекулярной биологии.

На втором этапе развития РБО (1970–1977) стержневая радиобиологическая проблема – химическая защита организмов высших от действия ионизирующего излучения – постепенно исчерпала себя из-за низкой эффективности радиопротекторов, в качестве которых в мире было использовано огромное множество химических соединений. В частности, эффект защиты мышей, крыс, собак от действия нейтронного излучения не превышал экспериментальной погрешности.

В других лабораториях, на более низком уровне организации живой материи, различные виды ионизирующего излучения стали все больше использоваться в качестве инструмента воздействия на клеточные популяции с последующим исследованием фундаментальных клеточных процессов репарации, рекомбинации, репликации. В качестве одного из итогов такой работы здесь можно назвать монографию Л. М. Грачевой и В. Г. Королева «Генетические эффекты распада радионуклидов в клетках», изданную в 1977 году. Надо сказать, что под учительской дланью Семена Ефимовича в его лаборатории постепенно выросла в матерых ученых группа сотрудников 35–40 лет, которая была готова к свободному творческому полету. Организовать для них необходимые рабочие площади и кадровое обеспечение можно было только на просторах гатчинского РБО. Среди первых десантников, перебазировавшихся на остров, были и те, кто впоследствии стал основой научной школы.

ровавшихся в Гатчину, можно назвать В. Л. Калинина, В. М. Крутякова, Л. А. Носкина, несколько позже к ним присоединился и Л. М. Фирсов.

К 1977 году стала очевидной необходимость воссоединения нашего биологического архипелага в единый материк для решения комплексных проблем биологии с привлечением бурно развивавшегося арсенала молекулярно-биологических методик. В апреле 1977 года Отдел молекулярной и радиационной биофизики возглавил Семен Ефимович Бреслер. Окунувшись с головой в научные проблемы отдела, он неожиданно для себя обнаружил немало талантливой молодежи в гатчинских лабораториях ОМРБ, и было видно, что расширение круга научного общения благотворно действует на нашего патриарха. Конечно же, польза была обоюдной: к встрече с Семеном Ефимовичем молодежи приходилось готовиться, чтобы быть на достаточно высоком и интересном для него уровне. Вольно или невольно более близкое присутствие Бреслера сказывалось и на повседневной экспериментальной работе сотрудника, потому что он выбирал Семена Ефимовича себе в самые строгие критики.

Это время было знаменательно еще и тем, что именно тогда возникли первые контакты с медицинскими диагностическими и терапевтическими проблемами и с их представителями. Началось это увлечение с попыток с помощью модных тогда липосом осуществлять адресную доставку в клетки и органы необходимых соединений, лекарств. Этим делом днями и ночами увлеченно занимались вулканоподобный Е. И. Шварц, его коллега по медицинскому цеху О. А. Розенберг и мотор многих прикладных начинаний ОМРБ Л. А. Носкин. Прошедший хорошую школу практической медицины и выпитывающий, как губка, новости молекулярных методов в медицинской генетике, Шварц в начале 80-х годов, когда еще не была предложена полимеразная цепная реакция, предлагал проводить диагностику наследственных болезней очень трудоемким, но единственно возможным тогда способом – через создание к-ДНКовой библиотеки генов человека.

В 1983 году, после кончины С. Е. Бреслера, ОМРБ возглавил В. Н. Фомичев, и проведенная ревизия разных сторон нашей жизни установила, что если в ближайшее время не овладеть бурно развивающимся арсеналом молекулярно-генетических методик, то мы будем отброшены на задворки современной биологической науки. Для их постановки нужны были зарубежные реактивы и практически полная замена устаревшего оборудования. На все это требовалась валюта – много валюты. И тут нам несказанно повезло: по заказу Третьего главного управления при Минздраве СССР мы подрядились выполнять целевую

работу, по которой нам на протяжении пяти лет был выделен почти миллион долларов. И можно сказать, что мы прямо с колес осваивали и новую технику, и новые генно-инженерные методики.

Вскоре грянуло начало эпохи ДНК-диагностики на основе реакции ПЦР, и здесь нам снова повезло: ключевой фермент для этой методики – термофильная ДНК-полимераза – незадолго до этого был выделен О. К. Кабоевым в достаточно больших количествах для других поначалу целей. В отделе явно недоставало специально ориентированной на новые молекулярно-генетические методики лаборатории. И такая лаборатория срочно была создана в Гатчине под руководством В. А. Ланцова, в которую была включена группа молекулярной генетики человека (руководитель Е. И. Шварц). Еще при давних посещениях Лаборатории биополимеров группа Ланцова там выглядела как-то по-особенному: сотрудники подтянутые, одетые в отутюженные белоснежные халаты, каждый за своим новым лабораторным столом, на котором аккуратно разложен инструмент, вдумчиво ставят эксперименты. На этом фоне казалось, что сотрудники других групп лаборатории могут делать свою работу на любом квадратном метре, будь то лестничная площадка или лабораторная мастерская. Не исключено, что такой стиль работы группы диктовался необходимостью соблюдения стерильности, но, похоже, не только этим.

По стечению благоприятных обстоятельств ОМРБ оказался первым в стране академическим центром, где была освоена и широко использована методика ПЦР. Более того, в Минздраве СССР тогда обсуждались планы создания под авторским надзором во всех регионах страны центров для молекулярной диагностики наследственных и инфекционных болезней. Всем этим планам, однако, не суждено было сбыться из-за последовавшей перестройки, распада СССР и полного обнищания Академии наук. С начала перестройки и до середины 1990-х годов ОМРБ покинуло около 60 молодых научных сотрудников, что было не меньшей бедой для нашей науки.

В 2000–2009 годы в ОМРБ, как и в целом в РАН, резко ухудшилось обеспечение исследований приборами и оборудованием. Тогда РАН с трудом перечисляла в ОМРБ лишь зарплату сотрудников в размере 3,285 млн руб. в месяц. Скромные дополнительные средства поступали из нескольких научных фондов и составляли в разные годы от 12 до 20 млн руб. в год. Произошедший в 2010 году переход ПИЯФ из РАН в НИЦ «Курчатовский институт» существенно улучшил ситуацию, о чем свидетельствуют приобретения ОМРБ за последние пять лет: конфокальный микроскоп Leica TCS SP 5 SMD (65 млн руб.) –

2010 год, перезарядка гамма-установки «Исследователь» (4 млн руб.) – 2011–2013 годы, хроматографическая система HPLC фирмы Waters (9 млн руб.) – 2011 год, ультрацентрифуга LK-90 Beckman (5 млн руб.) – 2012 год, цитофлуориметр фирмы Beckman (5 млн руб.) – 2012 год, комплекс для проведения мультипараметрических иммунобиологических исследований (4,8 млн руб.) – 2014 год, анализатор размера и концентрации наночастиц (5 млн руб.) – 2014 год. Текущие расходы на командировки и приобретение остро необходимых реактивов и препаратов составляли примерно 3 млн руб. в год. Всего в ОМРБ за это время было сделано приобретений на сумму около 100 млн руб.

Заметно улучшилось и обеспечение проведения конференций молодых сотрудников ОМРБ, стали ежегодными из эпизодических наши традиционные Зимние биологические школы ПИЯФ. Оживилась и кадровая политика – за пять лет в штат отделения было зачислено 25 молодых специалистов, в основном с кафедры биофизики СПбГПУ, при этом отток кадров в зарубежные научные центры практически сошел на нет. Однако в последнее время возникла угроза налаженному в прежние годы взаимодействию ОМРБ и кафедры биофизики из-за неожиданно возникших формальных препятствий.

Часть 5

Фундаментальные достижения ОМРБ

Гатчинский вклад в механизмы биосинтеза белка

С. В. Кириллов

Начало работы по изучению механизмов биосинтеза белка в Институте совпало с организацией РБО в Гатчине в филиале ФТИ им. А. Ф. Иоффе в начале 60-х годов, затем в ОМРБ ПИЯФ и продолжается до настоящего времени в Лаборатории биосинтеза белка ОМРБ ФГБУ «ПИЯФ» НИЦ «Курчатовский институт».

За этот период времени наши знания о строении рибосомы, синтезирующей белки в клетке, от начальных сведений о ее составе (две субъединицы, состоящие из трех рибосомных нуклеиновых кислот и 50 рибосомных белков) продвинулись до установления рентгеноструктурным анализом пространственной структуры этого гигантского молекулярного комплекса с разрешением около 3 ангстрем.

В 2009 году Нобелевскую премию по химии «За исследование структуры и функции рибосомы» получили трое ученых: Венки Рамакришнан (Venkatraman Ramakrishnan, United Kingdom), Томас Стейц (Thomas A. Steitz, USA) и Ада Йонат (Ada E. Yonath, Israel). В выборе кандидатов решающую роль сыграло установление структуры рибосом бактерий с атомарным разрешением. Однако главной задачей молекулярной биологии всегда было и есть – понять, как данная структура выполняет данную функцию.

Мы изучали в основном функции рибосомы, и по истечении 50-летних исследований справедливо спросить: что же мы сделали существенно важного в этом направлении, и как мы и другие российские ученые смотримся на фоне нобелевских лауреатов?

Для оценки нашего вклада в изучение функций рибосомы можно проанализировать статистику цитирования из обзора В. Рамакришнана, опубликованного за два месяца до получения им Нобелевской премии,

«Что недавно установленные структуры рибосомы дали для понимания механизма трансляции» (цитировано 134 работы) [1] и его экспериментальной работы 2006 года «Структура 70S рибосомы в комплексе с мРНК и тРНК» (цитировано 46 работ) [2].

1. *Schmeing T.M., Ramakrishnan V.* What Recent Ribosome Structures Have Revealed about the Mechanism of Translation // *Nature*. 2009. V. 461. P. 1234–1242.

2. *Selmer M., Dunham C.M., Murphy F.V., IV, Weixlbaumer A., Petry S., Kelley A.C., Weir J.R., Ramakrishnan V.* Structure of the 70S Ribosome Complexed with mRNA and tRNA // *Science*. 2006. V. 313. P. 1935–1942.

Из этих в сумме 180 ссылок на важнейшие работы по связи структуры и функции рибосомы на долю сотрудников Лаборатории биосинтеза белка (ЛББ) ОМРБ выпало девять.

С. В. Кириллов (зав. лаб., 1978–1998) – три [3–5]:

3. *Kirillov S.V., Wower Y., Hixson S.S., Zimmermann R.A.* Transit of tRNA Through the *Escherichia coli* Ribosome: Cross-Linking of the 3' end of tRNA to Ribosomal Proteins at the P and E Sites // *FEBS Lett*. 2002. V. 514. P. 60–66.

4. *Grigoriadou C., Marzi S., Kirillov S., Gualerzi C.O., Cooperman B.S.* A Quantitative Kinetic Scheme for 70S Translation Initiation Complex Formation // *J. Mol. Biol.* 2007. V. 373. P. 562–572.

5. *Pan D., Kirillov S.V., Cooperman B.S.* Kinetically Competent Intermediates in the Translocation Step of Protein Synthesis // *Mol. Cell*. 2007. V. 25. P. 519–529.

Ю. П. Семенов (зав. лаб., 1998–2009) – одна [6]:

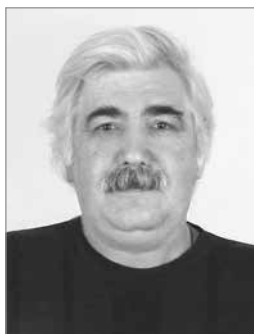
6. *Semenkov Y.P., Rodnina M.V., Wintermeyer W.* The “Allosteric Three-Site Model” of Elongation Cannot be Confirmed in the Well-Defined Ribosome System from *Escherichia coli* // *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*. 1996. V. 93. P. 12183–12188.

В. И. Катунин (зав. лаб., 2009–2012) – три [7–9]:

7. *Rodnina M.V., Savelsberg A., Katunin V.I., Wintermeyer W.* Hydrolysis of GTP Elongation Factor G Drives tRNA Movement on the Ribosome // *Nature*. 1997. V. 385. P. 37–41.

8. *Katunin V.I., Muth G.W., Strobel S.A., Wintermeyer W., Rodnina M.V.* Important Contribution to Catalysis of Peptide Bond Formation by a Single Ionizing Group within the Ribosome // *Mol. Cell*. 2002. V. 10. P. 339–346.

9. *Savelsberg A., Katunin V.I., Mohr D., Peske F., Rodnina M.V., Wintermeyer W.* Elongation Factor G-Induced Ribosome Rearrangement Precedes tRNA-mRNA Translocation // *Mol. Cell*. 2003. V. 11. P. 1517–1523.



Лидеры изучения биосинтеза белка (слева направо, сверху вниз):
 д. б. н., в. н. с. Е. М. Саминский, зав. лаб., д. б. н. С. В. Кириллов (1978–1998),
 к. б. н. Ю. П. Семенов (1998–2009), к. б. н. В. И. Катунин (2009–2012),
 к. ф.-м. н. А. Л. Коневега (с 2013-го)

А. Л. Коневега (зав. лаб. в настоящее время) – две [10–11]:

10. *Milon P., Konevega A.L., Gualerzi C.O., Rodnina M.V.* Kinetic Checkpoint at a Late Step in Translation Initiation // *Mol. Cell.* 2008. V. 30. P. 712–720.

11. *Julian P., Konevega A.L., Sheres S.H., Lazaro M., Gil D., Wintermyer W., Rodnina M.V., Valle M.* Structure of Ratcheted Ribosomes with tRNA in Hybrid States // *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*. 2008. V. 105. P. 16924–27.

Эти работы были выполнены в течение последних 15 лет в сотрудничестве с университетами США (Пенсильванским, Йельским, Томаса Джефферсона, Массачусетским), Италии (Университетом Камерино), Германии (Университетом Виттен-Хердеке и Институтом биохимии Общества Макса Планка), Испании (Национальным центром биотехнологии и Центром для кооперативных исследований по биологическим наукам). Много это или мало для небольшого коллектива, никогда

не превышавшего 10 сотрудников? Совсем неплохо, если учесть, что только четыре работы остальных российских институтов цитированы здесь по этой важной в нашей Академии наук проблеме (три статьи Института белка РАН и одна статья Института молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН с Государственным научным центром вирусологии и биотехнологии «Вектор»). Из нескольких сотен групп, занятых в проблеме, больше нас цитированы публикации только трех коллективов: W. Wintermeyer и M.V. Rodnina, Germany (изучали в основном функции) – 18; H. Noller, USA (структура и функции) – 14; J. Frank, USA (структура и функции) – 12. Нужно отметить, что H. Noller и J. Frank были реально обсуждаемыми претендентами на Нобелевскую премию, т. к. внесли существенный вклад в изучение как структуры, так и функций рибосомы. Основная масса ссылок Рамакришнана приведена на наиболее важные работы последних 15–20 лет, и в основном по бактериальным рибосомам, структура которых была установлена к 2004 году. При этом нет ссылок на некоторые фундаментальные факты, которые были установлены в нашем Институте и составили основу современной схемы синтеза белка в рибосоме и которые сейчас общеприняты и не обсуждаются. Это в полной мере касается более ранних работ группы Е. М. Саминского в Лаборатории биополимеров и нашей Лаборатории биосинтеза белка, выполненных ранее без участия зарубежных партнеров.

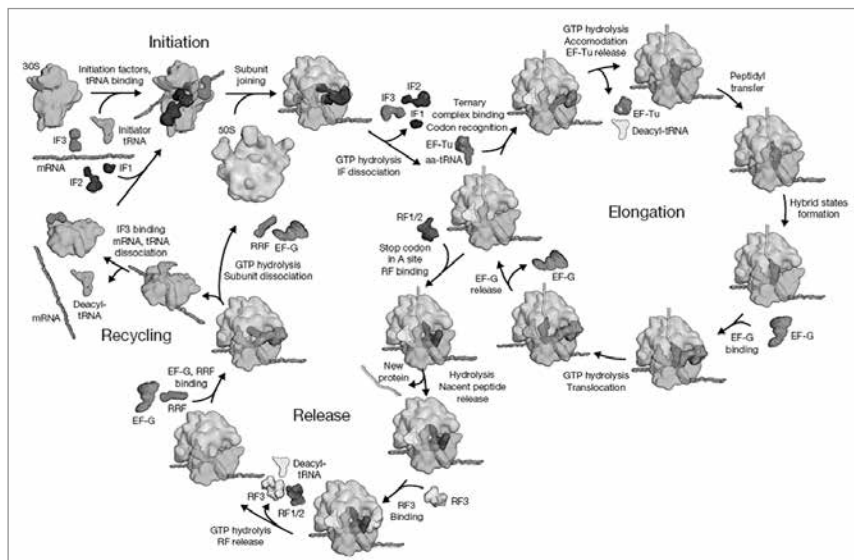


Рис. 1. Современная схема синтеза белка в рибосоме [1]

Современная схема синтеза белка в рибосоме состоит из нескольких этапов-циклов (рис. 1). Наш вклад заключается в основном в изучении термодинамики и кинетики взаимодействия основных участников синтеза белка: транспортной РНК и информационной РНК с рибосомами на всех этапах, и особенно детально в цикле элонгации и инициирования.

Из сотни с лишним опубликованных нами работ остановлюсь только на самых существенных результатах, которые общеприняты, вошли в современные схемы или использованы другими исследователями и которыми мы можем гордиться независимо от степени цитируемости.

Наш первый вклад в современную схему биосинтеза белка

Мы первыми доказали существование гипотетического промежуточного соединения в процессе биосинтеза белка – пептидил-тРНК при синтезе растущих пептидов в натуральной бесклеточной системе из бактерий и изучили сравнительную стабильность пептидил-тРНК и аминоацил-тРНК [12, 13].

В 1964 году Джеймс Уотсон сформулировал схему элонгации (наращивания) полипептидной цепи белка в рибосоме, ставшую классической, с двумя сайтами для связывания тРНК: А-сайтом (для связывания очередной аминоацил-тРНК в соответствии с поступившим туда кодоном информационной РНК) и Р-сайтом (удерживающим пептидил-тРНК в рибосоме), и концепцией транслокации – передвижения удлиненной после образования очередной пептидной связи на один аминокислотный остаток пептидил-тРНК из А- в Р-сайт с одновременным перемещением на один триплет информационной РНК и вытеснением деацилированной тРНК в раствор. В то время эта схема была гипотетической. Ряд косвенных данных свидетельствовал, что пептидил-тРНК является промежуточным соединением синтеза белка. Но, несмотря на то что пептидил-тРНК была включена во все схемы синтеза, прямых данных о существовании такого соединения не было. Уолтер Гилберт (будущий лауреат Нобелевской премии по химии за 1980 год), работавший в лаборатории Уотсона, первым показал образование синтетической полифенилаланил-тРНК в бесклеточной системе с использованием синтетической мРНК поли(У), а мы доказали существование такого промежуточного продукта при синтезе белка в натуральной бесклеточной системе из бактерий [12, 13].

Надо учесть, что это было время перехода от смелых гипотез к реальным схемам синтеза белка. Только в 1974 году дали Нобелевскую

премию Альберту Клоду, Джорджу Паладе и Кристиану де Дюв за доказательство того, что рибосомы синтезируют белок.

Во всех предлагавшихся схемах элонгирующей рибосомы с самого начала и до сегодняшнего дня пептидил-тРНК имеет кодон-антикодонное взаимодействие на Р-сайте.

На А-сайте это взаимодействие должно быть *a priori*. Сюда связывается следующая аминоацил-тРНК, узнает очередной триплет нуклеотидов информационной РНК и поставляет соответствующую триплету аминокислоту в пептидилтрансферазный центр для синтеза очередной пептидной связи. Однако этого нельзя было утверждать *a priori* для Р-сайт-связанной пептидил-тРНК, где она оказывается в результате следующего этапа – транслокации. Не было установлено, на каком этапе синтеза кодон-антикодонное взаимодействие тРНК и матрицы разрывается и тРНК покидает рибосому, чтобы участвовать в новом цикле синтеза пептидной связи.

В 1978 году мы впервые доказали, что кодон-антикодонное взаимодействие сохраняется и на Р-сайте, измерив термодинамические параметры взаимодействия аналога пептидил-тРНК – AcPhe-тРНК с Р-сайтом в присутствии специфической матрицы поли(У), неспецифической поли(Ц) и в отсутствие матрицы [14]. Только через год в пяти зарубежных лабораториях пришли к выводу о сохранении кодон-антикодонного взаимодействия на Р-сайте. Однако, в отличие от нас, ни в одной работе не было даже измерено сродство тРНК к Р-сайту в присутствии специфической и неспецифической матрицы или без нее. Вывод был сделан во всех работах на основе только косвенных данных, ничего не говорящих об энергии взаимодействия.

Разработка методов выделения функционально активных рибосом и систематическое количественное изучение термодинамики взаимодействия тРНК с рибосомами

По совету С. Е. Бреслера Е. М. Саминским вместе с Р. А. Граевской была начата работа по измерению термодинамических параметров взаимодействия тРНК с рибосомами, т. е. фактически весь процесс синтеза белка в рибосоме можно представить в виде сложной последовательности взаимодействий различных функциональных форм тРНК (деацилированной, аминоацил- и пептидил-тРНК) с сайтами рибосомы и передвижения тРНК и матрицы между ними в процессе синтеза.

Вначале было измерено базальное взаимодействие тРНК с рибосомой в упрощенной системе без матрицы. Для этого Е. М. Саминским

был разработан количественный метод измерения взаимодействия тРНК с рибосомами посредством седиментации компонентов в равновесных условиях [15].

Оказалось, что не только целые рибосомы 70S, но и обе изолированные субчастицы связывали тРНК без матрицы [15–18]. Было найдено, что при связывании деацелированной тРНК с 50S субчастицей существенную роль играет 3'-концевой аденозин тРНК, отрыв которого уменьшал константу ассоциации в 40 раз [18], а аминокислотирование тРНК приводило к уменьшению ее сродства к 50S субчастице примерно на порядок величины [16]. Эти работы ознаменовали переход от качественных наблюдений к количественному изучению процесса взаимодействия тРНК с рибосомами на разных этапах процесса элонгации, т. е. составили фундамент всех последующих исследований. Чтобы понять, что происходит в синтезирующей рибосоме, необходимо было проделать такие же количественные измерения в рибосоме с матрицей и на разных стадиях цикла элонгации и связать их воедино.

Решению этой задачи помогло то, что к этому времени было установлено, что два центра – кодон-антикодонного взаимодействия и пептидилтрансферазной активности – разделены между субчастицами. Специфическое связывание aa-тРНК с соответствующим кодоном информационной РНК происходит не только в 70S рибосоме, но и на изолированной 30S субчастице, в то время как катализ образования пептидной связи осуществляется на 50S субчастице.

Большим тормозом при проведении количественных измерений были гетерогенность и очень низкая активность (10–15 %) рибосом во всех тестах *in vitro*, и не только рибосом, но и тРНК тоже. Мы стали систематически изучать причины гетерогенности рибосом, неполной активности препаратов тРНК, причины их инактивации при выделении из клеток, чтобы установить условия сохранения рибосомами и тРНК биологически активных конформаций. Для этого стали применять синтетические пептидил-тРНК, индивидуальные aa-тРНК, синтетическую матрицу поли(У) со стандартизированной длиной.

Структура рибосомных субчастиц задана структурой рибосомных РНК, состоящих из множества небольших доменов – стержней и петель, стабилизирована множеством третичных взаимодействий между нуклеотидами и рибосомными белками и по своей природе динамична. Теперь мы знаем, что динамические изменения ряда областей рибосомы под воздействием белковых факторов элонгации и обеспечивают выполнение рибосомой сложнейших функций, включая движение тРНК и информационной РНК по ходу реакции.

Особенно лабильна структура 30S субчастицы. Мы установили, что биологическая активность 30S субчастиц (способность связывать специфическую тРНК в присутствии матрицы) уменьшается из-за диссоциации части рибосомных белков при выделении субчастиц и изменения их конформации [19–22].

Активная конформация малой субчастицы сохраняется только при определенном соотношении одно- и двухвалентных катионов в буфере уже при вскрытии клеток и на всех последующих этапах выделения и очистки субчастиц [22].

Мы обнаружили, что наряду с обратимой инактивацией субчастиц, которая была известна, при несоблюдении этих условий наблюдается необратимая инактивация малой субчастицы [21, 22]. Методом лазерной спектроскопии оптического смешения мы показали, что в инактивирующих условиях изменяются компактность и гетерогенность субчастиц по сравнению с более гомогенными и функционально активными [23].

Более того, при связывании специфической тРНК образующийся комплекс претерпевает существенные конформационные преобразования, о чем свидетельствуют аномальные зависимости Вант-Гоффа (зависимость логарифма константы ассоциации от $1/T$) и Аррениуса (зависимость логарифма константы скорости ассоциации от $1/T$). Мы наблюдали колоколообразные кривые для этих зависимостей вместо прямолинейных зависимостей [24]. Это является прямым свидетельством значительной перестройки стационарной структуры рибосом при образовании функциональных комплексов.

Прогресс в этой области шел медленно. В Институте белка АН СССР к 1975 году приготовили 30S субчастицы с рекордной активностью 0,35 молекулы Phe-тРНК, связанной на субчастицу в присутствии поли(U), и это считалось пределом, заложенным природой. В нашей лаборатории мы выделяли в это время 30S субчастицы, которые связывали около одной молекулы Phe-тРНК на субчастицу. Однако уже тогда мы знали, что предел равен двум, т. к. некоторые препараты 30S субчастиц связывали значительно больше одной молекулы тРНК на субчастицу, даже при базальном связывании без участия матрицы [17]. Спор закончился в 1979–1980 годах, когда мы, изучив причины инактивации и условия сохранения активных конформаций, выделили 30S субчастицы, связывающие две молекулы Phe-тРНК одновременно, и доказали, что эти два сайта 30S субчастицы составляют основную часть А- и Р-сайтов рибосомы, т. к. при добавлении к ним 50S субчастиц в 90 % образующихся рибосом 70S синтезировался дифенилаланин. При этом константы связывания Phe-тРНК с А- и Р-сайтами

рибосомы 70S были выше всего на 1-2 порядка величины по сравнению с соответствующими сайтами 30S субчастицы [24, 25].

Выделенные нами субчастицы при их соединении давали близкие к 100 % активности 70S рибосомы при трансляции на синтетических матрицах, с которыми мы тогда работали. Большинство исследователей принимали наши результаты с большим скепсисом. Однако в 1982 году К. Ганоза (Канада), применив наш метод, впервые получила в более чем 90 % рибосом синтез белка и на натуральной матрице – РНК из фага MS2.

Большинство лабораторий в 80–90-е годы работали (из-за простоты получения) с так называемыми прочными парами 70S (tight 70S), не диссоциирующими на субчастицы при низких концентрациях ионов магния. Природа более прочного соединения субчастиц рибосом предположительно состояла в изменении структуры 23S РНК по сравнению с таковой у менее прочных (loose) пар. Однако активными в синтезе белка *in vitro* были только 65–70 % таких рибосом.

В 1988 году мы решили и эту проблему, показав, что неактивные 30–35 % таких tight 70S рибосом содержат эндогенные мРНК и пептидил-тРНК, описанные ранее как «склеенные» 70S рибосомы, т. е. стабилизированные за счет взаимодействия длинного и/или гидрофобного пептида пептидил-тРНК с 50S субчастицей, предложив способ устранения этой примеси и получения tight 70S на 100 % активных в элонгации [26]. Что же мы сумели обнаружить нового и интересного в результате этой кропотливой работы по получению полностью активных рибосом? Что стало признанным и входит в современные схемы биосинтеза белка? Ответы на эти вопросы приведены в следующих разделах.

Смена общей схемы элонгации: переход от двухсайтовой модели рибосомы к трехсайтовой

В 1980 году методом центрифугирования в равновесных условиях Е. М. Саминским с сотрудниками [27, 28] было показано, что активная 70S рибосома содержит дополнительный сайт для деацелированной тРНК, не зависящий от матрицы и не совпадающий с А- и Р-сайтами рибосомы. Далее нами было установлено, что этот третий, специфический для деацелированной тРНК, сайт вносит в рибосому 50S субчастица [29]. Если с активной 30S-субчастицей мы связывали сначала две молекулы аа-тРНК, пептидил-тРНК или деацелированной тРНК, а затем добавляли 50S субчастицы, то с образовавшейся 70S рибосомой дополнительно связывалась третья молекула тРНК, но только в деацелирован-

ной форме [29]. Взаимодействие тРНК с этим третьим, дополнительным, сайтом, названным впоследствии выходным (exit – E), не ингибировали антибиотики тетрациклин и эдеин, в отличие от связывания с А- и Р-сайтами. Константа связывания деацилированной тРНК^{Phe} с E-сайтом без матрицы уменьшалась менее чем в два раза, что говорило об отсутствии на нем кодон-антикодонного взаимодействия. Без матрицы рибосомы связывали две молекулы тРНК (с Р- и E-сайтами), в присутствии антибиотиков тетрациклина и эдеина – только одну (с E-сайтом) [29].

В 1984 году дополнительно было показано [30], что в водном растворе только деацилированная тРНК связывается с 50S субчастицей, и на сайте, не совпадающем с Р-сайтом пептидилтрансферазы рибосомы. В присутствии спирта деацилированная тРНК даже стимулирует связывание 3'-концевых аминокислотированных субстратов с Р'-сайтом пептидилтрансферазы 50S субчастицы [30].

Таким образом, два кодон-зависимых сайта, аминокислотный (А) и пептидилный (Р), малой субчастицы рибосом и один кодон-независимый выходной сайт (Е) большой субчастицы составляют основу для трех сайтов связывания тРНК в 70S рибосоме.

Введение третьего сайта Е в современную схему работы рибосомы со свойствами, принятыми большинством исследователей сегодня – матрично-независимого (т. е. не имеющего кодон-антикодонного взаимодействия, специфического к деацилированной тРНК и расположенного на 50S субчастице, с высокой константой связывания, но быстро обмениваемого с деацилированной тРНК из раствора), – является нашим фундаментальным вкладом.

Впервые три сайта (связывание до 2,6 молекулы тРНК на рибосому) наблюдали Веттштейн и Нолл в 1965 году на рибосомах из полисом эукариот. Однако эту работу никто не подтвердил в то время. Большинство исследователей работали с бактериальными рибосомами, и из-за их низкой активности *in vitro* (связывающих в сумме менее одной-двух тРНК на рибосому) более 15 лет считали, что в рибосомах имеется только два сайта (А и Р). По иронии судьбы E-сайт рибосомы, т. е. сайт 50S субчастицы, был описан ранее других, но был принят за Р-сайт рибосомы, т. к. полифенилаланил-тРНК и другие пептидил-тРНК с длинным и/или гидрофобным пептидом при диссоциации рибосом на субчастицы в основном оказывались связанными с 50S субчастицей благодаря взаимодействию такого пептида с рибосомой. Изолированная же 50S-субчастица связывала в водном растворе сильнее всего деацилированную тРНК, на порядок слабее аминокислот-тРНК, и практически не связывала пептидил-тРНК [15, 16, 18, 29].

Е. М. Саминский сделал сообщение о наличии третьего матрично-независимого сайта в рибосоме (до публикации в журнале) в 1980 году в Паланге на Всесоюзном симпозиуме «Реализация наследственной информации» [27]. Об этом стало известно немецкому ученому К. Ниерхаусу, и в его группе срочно занялись этой проблемой и опубликовали уже в сентябре того же года в журнале, издаваемом в их собственном институте, статью о наличии третьего, но матрично-зависимого сайта в рибосоме.

В опытах этой группы были использованы прочные 70S рибосомы, в которых суммарное связывание тогда ни у кого (в т. ч. и во всех их последующих публикациях) не превышало в сумме двух молекул тРНК. Как уже было сказано, в 1988 году [26] мы показали, что прочные пары на 30–35 % состоят из так называемых склеенных 70S, содержащих эндогенную матрицу и длинный эндогенный полипептид, а значит, и тРНК, в результате чего они не могли в принципе дополнительно связывать три молекулы меченой тРНК. Так что связывание трех молекул в присутствии матрицы в первой работе было чистым блефом, объясняемым неправильно учтенным фоном меченой тРНК. Связывание только одной молекулы тРНК с рибосомой в отсутствие матрицы в их экспериментах подтверждает этот вывод. А из результата данного опыта был сделан ошибочный вывод о матричной зависимости третьего сайта рибосомы. За короткое время они напечатали множество работ, «открыли» новые эффекты (принцип эксклюзии в связывании пептидил-тРНК с А- и Р-сайтами, негативной аллостерии между А- и Е-сайтами) и предложили новые модели элонгации, альтернативные классической. Все это в конечном итоге оказалось неверным и несостоятельным, основанным на экспериментальных ошибках, и в первую очередь из-за неучета обратимости транслокационного процесса, как будет показано далее. Нами было обнаружено, что «принцип эксклюзии» при связывании пептидил-тРНК с А- и Р-сайтами рибосомы [31] и «негативная аллостерия» в связывании тРНК с А- и Е-сайтами [11] являются экспериментальными ошибками. Более того, мы показали, что введение в рибосому третьего сайта, не имеющего кодон-антикодонного взаимодействия, не нарушает принципов классической схемы элонгации, а только расширяет и уточняет ее [32].

Как же был принят третий выходной сайт Е в рибосомах рибосомологами? Не признавался, вернее игнорировался, большинством исследователей более 10 лет.

Но только две лаборатории выступили за это время с заявлениями, что третьего сайта нет в рибосомах бактерий: лаборатория В. Вин-

термайера (Германия) и лаборатория А. С. Спирина (Институт белка АН СССР). Винтермайеру я послал письмо, в котором убедил его, что из его собственных опубликованных данных с флуоресцентно-мечеными тРНК следует вывод наоборот: Е-сайт есть, и они его видят, но принимают за некий общий промежуточный сайт при связывании тРНК на А- и Р-сайты рибосомы. Но такого сайта в рибосоме нет. С вакантной рибосомой связывание на Р-сайт идет через Е-сайт, а с А-сайтом связывание тРНК происходит матрично-зависимо непосредственно из раствора и только при наличии в Р-сайте тРНК в любой функциональной форме. Это фундаментальное свойство рибосомы, определяющее однонаправленность движения тРНК при синтезе белка. В результате Винтермайер присоединился к клубу трех сайтовиков и первым убедительно доказал участие Е-сайта в синтезе белка как выходного. Мы пригласили его к нам в лабораторию, потом я три месяца работал по ЕМВО-стипендии в его лаборатории, и с этого началось наше плодотворное сотрудничество, которое продолжается и до сих пор.

Сегодня большинство обзоров литературы по синтезу белка начинается со слов: «В рибосоме три сайта для связывания тРНК: А, Р и Е», что воспринимается как само собой разумеющееся и общепринятое, но однако ссылки на первооткрывателей не приводятся.

Наличие трех сайтов в рибосоме и их распределение между субчастицами (А- и Р-сайты на малой и Е-сайт на большой) было доказано нами и для эукариотических рибосом. Мы начали эту работу совместно с Институтом белка (Берлин, ГДР) и показали, что 40S субчастица тоже связывает две молекулы тРНК [33]. А когда при объединении ГДР и ФРГ Институт белка закрыли, то продолжили эту работу с М. Родниной из Киевского института молекулярной биологии. Она попросилась к нам стажироваться, только что окончив институт. М. Роднина сумела выделить самостоятельно активные рибосомы эукариот и выполнила под руководством Ю. П. Семенкова две работы, по которым защитила кандидатскую диссертацию [34, 35]. После этого я рекомендовал ее в качестве соискателя на премию Фонда фон Гумбольдта, и, работая с В. Винтермайером, она стала за эти годы ведущим ученым в Германии, ныне академиком и директором Института биофизической химии Общества Макса Планка.

Кстати, в работе [35] было впервые показано наличие положительной кооперативности при связывании специфических тРНК на Р- и А-сайтах. Такой эффект наблюдали в 1983 году Лабуда и Першке в системе взаимодействующих триплетов и тРНК без рибосом и предположили, что это может иметь место и в рибосоме.

Изучение механизма кодон-антикодонного взаимодействия в рибосоме. Измерение термодинамических параметров взаимодействия матрицы поли(У) и трех функциональных форм тРНК со всеми сайтами 70S рибосомы и ее субчастиц

По механизму кодон-антикодонного взаимодействия опубликовано 15 статей в 1978–1984 годах. Результаты суммированы в работах [36, 37] и обзорах [24, 38]. Приведу только основные выводы из термодинамических измерений взаимодействия матрицы и тРНК с рибосомами.

1. Матричная РНК в 70S рибосоме взаимодействует только с 30S субчастицей, 50S субчастица не участвует во взаимодействии с матрицей.

2. Показано, что Р-сайт имеет самое высокое сродство ко всем трем функциональным формам тРНК (фф-тРНК).

3. Установлен неожиданный порядок относительного сродства фф-тРНК к сайтам рибосомы. Сродство падает в ряду:

- на А-сайте: aa-тРНК > пептидил-тРНК >> деацил-тРНК (как ожидалось);

- на Р-сайте: деацил-тРНК > aa-тРНК > пептидил-тРНК (противоречие с гипотезой продукт-субстратных отношений Ледера: пептидил-тРНК – субстрат Р-сайта ПТЦ имеет наименьшее сродство, а продукт – деацилированная тРНК – наибольшее);

- на Е-сайте: деацил-тРНК > aa-тРНК >> пептидил-тРНК.

Эти соотношения относительного сродства, как и сами величины констант связывания, были подтверждены позднее Винтермайером с сотрудниками в 1986 году. Установленный необычный порядок сродства на Р- и Е-сайтах определяется тем, что тРНК – весьма «специфический субстрат» пептидилтрансферазного центра. Истинными субстратами каталитического центра, расположенного на 50S субчастице, являются только -ССА-концы тРНК. Две области тРНК участвуют во взаимодействии с Р-сайтом вакантной рибосомы: -ССА-конец с 50S субчастицей и антикодоновый стержень и петля (ASL) с 30S субчастицей. Причем энергия взаимодействия -ССА-конца с рибосомой много меньше, чем энергия взаимодействия ASL (из 13,5 ккал/моль изменения свободной энергии связывания всей тРНК на долю -ССА-конца приходится только 2,4 ккал/моль) [39]. Это эквивалент разрыва менее двух водородных связей в соответствии с измеренной впервые в лаборатории С. Е. Бреслера энергией водородной связи 1,4 ккал/моль [40]. Таким образом, вклад -ССА-конца во взаимодействие с Р-сайтом слишком мал по сравнению с таковым для ASL, чтобы объяснить наблюдаемый порядок сродства.

Кодон-антикодонное взаимодействие на А- и Р-сайтах стабилизировано и регулируется взаимодействием 3'-соседа антикодона тРНК, как правило, за счет модификации этого нуклеотида. Отсутствие и степень модификации этого нуклеотида на стабилизацию кодон-антикодонного взаимодействия на А- и Р-сайтах рибосомы мы изучили количественно [41–45].

Транслокация: роль EF-G-фактора и гидролиза гуанозинтрифосфата

В течение 40 лет и до последнего времени идут споры о механизме транслокации в рибосоме. Долгое время считалось (и многие считают до сих пор), что явление транслокации является специфическим, присущим только рибосоме свойством и гидролиз гуанозинтрифосфата (ГТФ) как таковой не нужен для транслокации. Отсюда пошли поиски специальных механизмов, молекулярных моторов, аналогий с мышечным сокращением и прочая мистика. Два наблюдения способствовали этому: синтез коротких пептидов без участия факторов элонгации (неэнзиматический синтез и транслокация) и ускорение транслокации фактором элонгации EF-G с негидролизуемым аналогом ГТФ и даже с гуанозиндифосфатом (ГДФ).

Мы установили, что сродство специфической деацелированной тРНК на Р-сайте (имеющей кодон-антикодонное взаимодействие) выше по меньшей мере в 100 раз (а при низкой концентрации магния до 10 000 раз), чем ее сродство к Е-сайту, где она не имеет кодон-антикодонного взаимодействия [24]. Был сделан вывод: разорвать кодон-антикодонное взаимодействие (как минимум 4–6 водородных связей) на Р-сайте и переместить тРНК на Е-сайт с меньшим сродством в процессе транслокации невозможно без компенсации изменения свободной энергии взаимодействия. Однако гидролиз ГТФ не может играть роль сопряженной реакции для транслокации, т. к. в ходе транслокации не образуются новые химические связи, нет химической реакции для термодинамического сопряжения.

С участием В. И. Катунина в лаборатории В. Винтермайера было доказано экспериментально, что связывание фактора элонгации EF-G и последующий гидролиз ГТФ необходимы и являются наиболее ранними событиями в процессе транслокации [3].

Опыты с ГДФ оказались ошибкой, т. е. результатом присутствия в препаратах ГТФ, связанной с рибосомами на предшествующих этапах и неотмытой при приготовлении претранслокационного комплекса [8].

Однако конформационные изменения, сопровождающие транслокацию, начинаются при связывании EF-G-фактора еще до гидролиза ГТФ [5]. Поэтому вопрос, для чего нужен гидролиз ГТФ, оставался открытым до последнего времени.

Наблюдение неэнзиматической транслокации *in vitro* является тривиальным сдвигом системы в сторону равновесия, т. е. образования более стабильного комплекса. При приготовлении претранслокационного комплекса в начале эксперимента создаются неравновесные условия: пептидил-тРНК на А-сайте и деацилированная тРНК на Р-сайте при свободном Е-сайте и отсутствии деацилированной тРНК в растворе. Естественно, что деацилированная тРНК будет переходить в части рибосом благодаря тепловому движению спонтанно с Р-сайта (с более высоким сродством) на пустой Е-сайт (с низким сродством), пока не установится равновесное распределение тРНК между этими сайтами (в соответствии с константами связывания тРНК к сайтам) и деацилированной тРНК с раствором. На освободившийся Р-сайт будет происходить спонтанный переход пептидил-тРНК из А-сайта (ее сродство к Р-сайту выше), а на освободившийся А-сайт может связаться очередная aa-тРНК, при этом образуется пептидная связь и т. д. Этот процесс идет медленно, и равновесие достигается в обычных условиях (используемых концентрациях компонентов) при синтезе всего 1-2 пептидных связей на рибосому. Здесь нет никаких специальных механизмов, обеспечивающих движение тРНК и матрицы, никакой мистики – только обратимое взаимодействие молекул тРНК и матричной РНК с рибосомами и установление равновесия под действием теплового движения, образование наиболее стабильного комплекса взаимодействующих компонентов.

Подтверждением такого сценария событий является наблюдение в отсутствие фактора элонгации обратной транслокации – превращения посттранслокационного комплекса в претранслокационный [46, 47]. Для этого нужно ввести в систему достаточное количество деацилированной тРНК [46], и за 20 минут вся пептидил-тРНК перемещается из Р- в А-сайт, при этом Р- и Е-сайты заняты деацилированной тРНК (на Р-сайте специфическая тРНК) [47]. Это означает, что при наличии достаточной концентрации в растворе деацилированной тРНК в такой системе претранслокационный комплекс оказывается стабильнее посттранслокационного.

Впервые обратный ход транслокации наблюдал Ю. П. Семенов в лаборатории К. Ниерхауса еще в 1992 году при проверке противоречий в экспериментах двух лабораторий. Несмотря на то что первоначаль-

чальным условием немецкой стороны было обязательное опубликование результатов этой проверки, наши партнеры сделали все возможное, чтобы эти результаты не были опубликованы в то время. Публикация означала бы признание ошибочными всех их выводов в целом ряде статей по доказательству кодон-зависимости E-сайта, принципа негативной аллостерии, т. к. формирование комплексов тРНК с рибосомами в их основных экспериментах проводилось в условиях реализации обратной транслокации. В результате из-за неучета обратимости транслокации специфические тРНК находились совсем не на тех сайтах, которые им приписывались авторами. Отсюда и ошибочность основных выводов лаборатории Ниерхауса по свойствам выходного сайта, а наличие противоречий с нами явилось одной из причин затяжного периода в признании E-сайта рибосомологами.

Регистрация движения тРНК в ходе обратной транслокации методом криоэлектронной микроскопии позволила нам наблюдать до 50 различных промежуточных положений тРНК относительно рибосомы [47]. Но наблюдение короткоживущих состояний таким методом сильно ограничено. Очевидно также, что при спонтанной транслокации и фактор-зависимой тРНК проходит через те же самые взаимодействия, через одну и ту же последовательность распада предыдущих и образования новых контактов с рибосомой, но скорости этих процессов отличаются в сотню тысяч раз. Единственной причиной движения макромолекул является тепловое движение. Для разрыва одной слабой связи типа водородной достаточно тепловой флуктуации в 2-3 кТ, поэтому смена контактов один за другим легко реализуется за счет тепловых флуктуаций. Разрыв большого количества слабых связей спонтанно-одновременно, да еще определенного набора, является событием маловероятным. Для этого необходимо вовлечение взаимодействий дополнительных лигандов, роль которых и выполняют факторы элонгации.

Посмотрим на проблему с другой стороны. Что является главным препятствием для движения при транслокации? Наши термодинамические данные по взаимодействию тРНК с рибосомными сайтами дают однозначный ответ на этот вопрос: необходимость разрыва кодон-антикодонного взаимодействия Р-сайт-связанной деацелированной тРНК. Это самый первый и абсолютно необходимый шаг, даже независимо от относительного сродства тРНК к Р- и E-сайтам, потому что природа сил взаимодействия на этих сайтах различная. На E-сайте преобладают кулоновские взаимодействия, благодаря чему E-сайт-связанная тРНК быстро обменивается с раствором [28]. Это необходимо для выполнения им функций выходного сайта. В то время как на Р-сайте преобладают

медленно обмениваемые взаимодействия: водородные связи, гидрофобные и стэкинг-взаимодействия. Поменять все связи при переходе тРНК с Р- на Е-сайт, да к тому же другой физической природы, можно только путем организации промежуточного высокоаффинного, но короткоживущего комплекса – назовем его Transition Interaction Complex (TIC).

В быстром образовании TIC (в стабилизации необходимой конформации рибосомых доменов в нужной пространственной конфигурации групп взаимодействия с тРНК) и быстром распаде этого комплекса и состоит функция связывания EF-G-фактора с ГТФ и гидролиза ГТФ. Образование и распад такого промежуточного комплекса нам удалось наблюдать по изменению флуоресценции инициаторной деацелированной тРНК^{fMet}(prf 20) при ее транслокации из Р- в Е-сайт [8].

Ранее кинетика транслокации была подробно изучена по увеличению интенсивности флуоресценции пептидил-тРНК^{Phe}(prf 16/17) из дрожжей при переходе ее из А- в Р-сайт (рис. 2а). При этом наблюдалось монофазное увеличение интенсивности флуоресценции, хотя мы знаем, что процесс транслокации состоит по меньшей мере из 4-5 этапов. Однако в опытах с пептидил-тРНК^{Phe}(prf 16/20) из бактерий (движение А → Р, рис. 2б) и тРНК^{fMet}(prf 20) (движение Р → Е, рис. 2в) нам удалось наблюдать два этапа в ходе транслокации: сначала на первом этапе происходит увеличение интенсивности флуоресценции тРНК, а затем уменьшение [8]. Первый этап мы и связываем с образованием некоего промежуточного состояния в процессе транслокации (Int, или TIC), а второй этап – с уменьшением интенсивности флуоресценции, с переходом в конечное посттранслокационное состояние.

Сравнение кинетики образования этого промежуточного состояния (TIC) в рибосоме с участием EF-G-фактора с ГТФ и негидролизующим аналогом GDPNP дало ответ о вкладе как связывания фактора и ГТФ с рибосомой, так и самого гидролиза ГТФ в ускорение транслокации. Скорость образования TIC с негидролизующим аналогом ГТФ всего в семь раз ниже таковой с участием ГТФ (отношение констант скоростей $3,8/28 \text{ c}^{-1}$), в то время как распад обоих комплексов происходит с одинаковой скоростью (6 c^{-1}) (рис. 2г). Необходимо подчеркнуть, что EF-G-фактор в присутствии ГДФ не ускоряет транслокацию совсем (рис. 2г) [8]. Наблюдаемое ранее ускорение транслокации в присутствии ГДФ было вызвано ее примесью в ГТФ или присутствием неотмытой от рибосом ГТФ, внесенной на предыдущих этапах эксперимента.

Из наших данных следует, что главную роль в ускорении транслокации играет взаимодействие фактора элонгации в комплексе с ГТФ (его активной формы), приводящее к формированию высокоаффинного

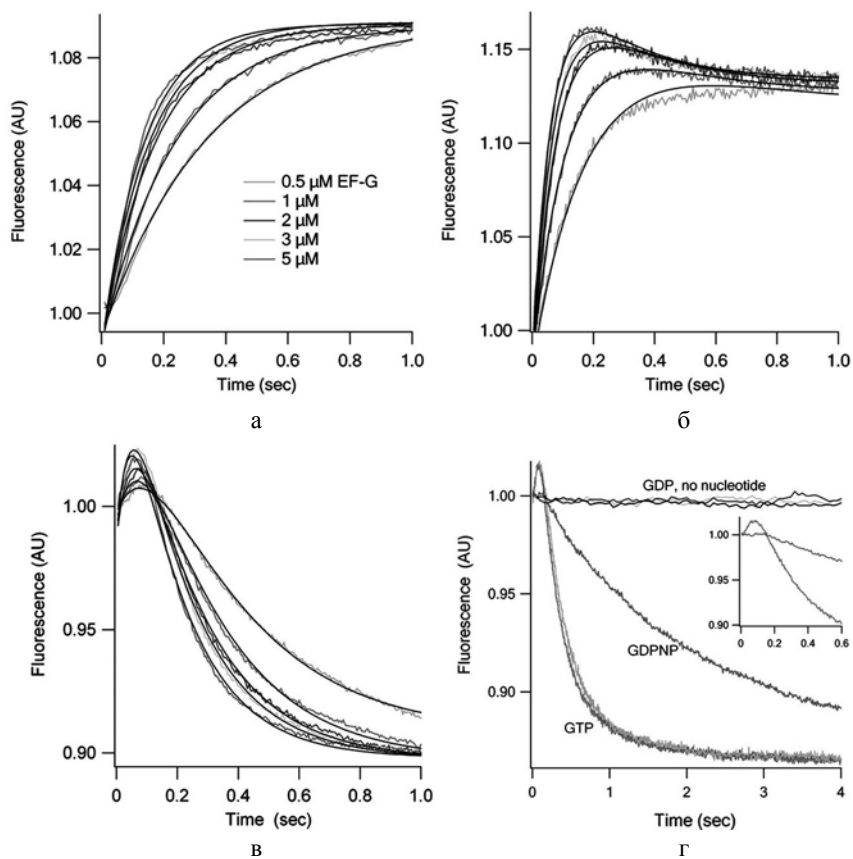


Рис. 2. а – изменение флуоресценции при транслокации А-сайт-связанной fMetPhe-tRNA(prf 16/17, yeast); б – то же для fMetPhe-tRNA(prf 16/20, *E. coli*); в – изменение флуоресценции при транслокации Р-сайт-связанной tRNA^{fMet} (prf 20) при разных концентрациях GTP; г – то же, что на рис. в при транслокации с разными нуклеотидами: GTP, GDPNP и GDP

промежуточного комплекса (ТКС) в результате конформационных изменений рибосомы и вовлечения дополнительных связей тРНК с фактором и рибосомой, что обеспечивает, вероятно, разрыв кодон-антикодонного взаимодействия Р-сайтовой тРНК. Одновременно происходит взаимодействие фактора с рибосомным центром, активирующим его ГТФазу, в результате чего гидролизуется ГТФ и происходит изменение конформации фактора, превращение его в неактивную форму ($EF-G \times GDP$), которая теряет сродство к рибосоме, и ТКС разваливается. В результате изменяющихся на каждом этапе взаимодействий тРНК с рибосомой происходит движение тРНК, сначала Е-сайтовой (см. рис. 2в, г; максимум интенсивности флуоресценции соответствует образованию ТКС за 0,08 с), затем А-сайтовой п-тРНК (рис. 2б; максимум интенсивности флуоресценции образуется за 0,2 с) [8]. И таким образом реализуется конформационный катализ движения тРНК и мРНК в рибосоме.

Идея о главной роли в ускорении транслокации конформационных изменений рибосомы при связывании $EF-G \times GTP$ была высказана Казиро с сотрудниками в 1974 году. Но уже в следующей работе в 1977 году ими было показано, что образование комплекса с фактором и негидролизуемым аналогом ГТФ обратимо, а гидролиз ГТФ обеспечивает однонаправленность процесса транслокации. И это все совершенно правильно. Но результаты первой работы стали использоваться в качестве аргумента, отрицающего необходимость гидролиза ГТФ для транслокации, и поиска специфических механизмов для реализации этого процесса.

Обнаружение гибридных состояний тРНК и их роль в транслокации

Так как центры кодон-антикодонного взаимодействия тРНК с мРНК и пептидилтрансферазный разделены между субчастицами рибосомы, то при движении тРНК последовательная смена контактов на субчастицах может происходить с образованием промежуточных гибридных состояний тРНК, когда, например, 3'-конец тРНК уже переместился из А-сайта в Р-сайт на 50S субчастице, а антикодонная петля еще остается связанной с А-сайтом на 30S субчастице.

Такая идея была высказана давно, но только 20 лет спустя образование гибридных состояний *in vitro* было показано экспериментально [48–50].

Если обозначить «А» и «Р» части сайтов на 30S, а «а» и «р» на 50S, то нормальное, «классическое» связывание на А-сайте будет А/а,

на Р-сайте – Р/р, и тогда гибридные состояния можно обозначить как А/р и Р/Е. Моazed и Ноллер (США, 1989) показали спонтанное образование таких гибридных состояний методом защиты рибосомных РНК от химических модификаций связанными с рибосомой тРНК, а мы путем реакции с пурамицином А-сайт-связанной пептидил-тРНК в отсутствие транслокации [48–50].

Определение А- и Р-сайтов всегда было функциональным: пептидил-тРНК, связанная с Р-сайтом, реагирует с антибиотиком пурамицином (аналогом 3'-конца аа-тРНК), а связанная с А-сайтом не реагирует, но приобретает это свойство после транслокации. Мы обнаружили, что если заблокировать спонтанную транслокацию антибиотиками, то реакция с пурамицином пептидил-тРНК, расположенной на А-сайте, все-таки идет, но очень медленно. Это можно объяснить тем, что 3'-конец пептидил-тРНК достаточно подвижен и может спонтанно связываться с р-сайтом пептидилтрансферазного центра на 50S субчастице, образуя гибридное состояние А/р, после чего и реагирует с пурамицином. Но реакция с пурамицином из гибридного состояния А/р идет чрезвычайно медленно (константа скорости при 25 °С равна $5,4 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$) [50]. А это значит, что доля гибридного состояния, образованного спонтанно, ничтожно мала за время связывания EF-G-фактора и гидролиза ГТФ и последующей транслокации (константа скорости $10\text{--}20 \text{ с}^{-1}$). Так что вводить в схему элонгации отдельный этап с образованием гибридного состояния до прихода EF-G-фактора, как это показано на рис. 1, не было и нет никаких оснований. Деацилированная тРНК действительно проходит через гибридное состояние (Р\р–Р\Е), а пептидил-тРНК, соответственно, через (А\а---А\р), но это происходит быстро с участием фактора элонгации и гидролиза ГТФ [8] и является тривиальным следствием многоточечного взаимодействия тРНК с рибосомой.

Сегодня необоснованно важная роль в движении тРНК при транслокации отводится образованию гибридных состояний тРНК. При этом игнорируется экспериментальный факт: вклад в свободную энергию взаимодействия всего -ССА-конца молекулы тРНК в пептидилтрансферазном центре 50S субчастицы составляет малую долю от полной энергии взаимодействия всей тРНК с рибосомой 70S [39]. Разница же в свободной энергии взаимодействия -ССА-конца молекулы тРНК между соседними сайтами, от которой это движение зависит, просто ничтожна и потому не может оказать существенного влияния на скорость транслокации. Спонтанное образование гибридных состояний *in vitro*, по сути дела, и вызвано малой разницей в энергии связывания -ССА-конца с а- и р-сайтами пептидилтрансферазного

центра [48–50]. В пользу этого говорит и то, что в водных растворах не удается наблюдать взаимодействие минимальных субстратов пептидилтрансферазы (3'-фрагментов тРНК) с 50S субчастицей. Связывание этих субстратов и их реакцию образования пептидной связи можно наблюдать только при добавлении 20–30 % спирта, т. к. увеличение концентрации спирта на 8 % увеличивает константу связывания этих минимальных субстратов на порядок величины [16, 18, 30].

Роль центральной части консервативной L-образной молекулы тРНК в обеспечении ее движения в процессе транслокации и связывания на А-сайт

Для того чтобы разорвать сильное взаимодействие ASL на 30S субчастице при транслокации, образующийся промежуточный рибосомный комплекс (ПКС) должен обладать не меньшим сродством к тРНК, чем Р-сайт.

Естественно было предположить, поскольку -ССА-конец не годится на роль участника образования промежуточного комплекса, что центральная часть молекулы тРНК, где сходятся Т- и Д-петли, образуя угол L-образной структуры тРНК, вовлечена в это взаимодействие. Две пары оснований, G18-U55 и G19-C56, образуют третичные водородные связи, стабилизирующие эту структуру и фиксирующие угол между антикодонным и акцепторными стержнями. Нарушение этих третичных водородных связей может уменьшить жесткость молекулы, увеличить подвижность ветвей тРНК и привести к изменению углов между всеми четырьмя стержнями молекулы. В результате должно измениться положение, а значит, и взаимодействие с рибосомой многих групп тРНК одновременно. Это строго консервативная часть структуры во всех без исключения тРНК, что уже предполагает ее важную (и до последнего времени неизвестную) функциональную роль. Траектория движения этой центральной части, «локтя» L-образной молекулы тРНК, – самая большая как при транслокации, так и при связывании с А-сайтом, и ее участие в промежуточных взаимодействиях, даже исходя из простых физических соображений, казалось весьма вероятным.

И действительно, мы показали необходимость сохранения этой консервативной связи Т- и Д-петель как при транслокации, так и при связывании тРНК на А-сайт [8, 51]. Вводя сайт-направленным мутагенозом замены оснований в пару G18-U55 Р-сайт-связанной инициаторной РНК претранслокационного комплекса, мы измеряли скорость транслокации по увеличению интенсивности флуоресценции А-сайт-связанной

пептидил-тРНК – fMetPhe-tRNA^{Phe}(prf16/17). Замены оснований, приводящие к ликвидации водородных связей в паре оснований G18-U55 в инициаторной тРНК^{fMet}, уменьшали скорость транслокации до 80 раз, тем самым подтверждая важную роль связи Т-Д-петель в динамических взаимодействиях, обеспечивающих транслокацию тРНК [51].

Два этапа в процессе транслокации с вовлечением центральной области тРНК можно наблюдать и по изменению интенсивности флуоресценции метки, введенной в Д-петлю А-сайт-связанной пептидил-тРНК, если Phe-tRNA^{Phe} в ее составе из *Escherichia coli*, т. е. fMetPhe-tRNA^{Phe}(prf 16/20) [8]. При этом также образуется сначала промежуточный комплекс с повышенной интенсивностью флуоресценции (ТИС при движении А → Р), которая снижается на втором этапе до уровня Р-сайт-связанной пептидил-тРНК. Широкое использование ранее дрожжевой Phe-tRNA^{Phe}(prf 16/17) в системе из бактериальных рибосом для регистрации транслокации маскировало образование промежуточного комплекса из-за различного положения флуоресцентной метки в дрожжевой и бактериальной тРНК.

Таким образом, центральная область молекулы тРНК прямо или косвенно принимает участие в образовании промежуточных комплексов (ТИС) транслокации как при движении Е → Р деацелированной тРНК, так и при движении А → Р пептидил-тРНК.

Связывание аминоксил-тРНК на А-сайт. Пруфридинг и роль третьего макроэрга в цикле элонгации

Транспортная РНК совершает в рибосоме значительные перемещения в десятки ангстрем не только во время транслокации, но и в процессе связывания на А-сайт в виде тройного комплекса аминоксил-тРНК × EF-Tu × GTP. Рибосома увеличивает точность трансляции по крайней мере в 100 раз за счет повторного использования разницы в энергии кодон-антикодонного взаимодействия своей и близкой (с отличием на одну букву) по кодону aa-тРНК, реализуемого в процессе пружинирования (чтения корректуры). Для этого второй этап кодон-антикодонного взаимодействия необходимо отделить от первого необратимой реакцией, роль которой и выполняет EF-Tu-зависимый гидролиз GTP. Мы измерили сродство Phe-тРНК без участия фактора элонгации EF-Tu к А-сайту рибосом 70S, Р-сайт которых был занят аналогом пептидил-тРНК, не способным быть донором в синтезе пептидной связи (AcPhe-tRNA_{ox-red}) [52]. Сравнение измеренной константы ассоциации Phe-тРНК с А-сайтом с вычисленной константой

равновесия из соотношения констант скоростей прямой (ассоциации) и обратной (диссоциации) реакций показало, что связывание аминоксил-тРНК идет в два этапа. На первом быстро достигается квазиравновесное связывание aa-тРНК с константой ассоциации, которую мы измерили [$(2-8) \cdot 10^7$ моль⁻¹ при 8–30 ммоль Mg²⁺ при 0 °С], на втором происходит медленное закрепление тРНК, и комплекс становится на порядок величины более стабильным при продолжении инкубации. Фактор элонгации EF-Tu с ГТФ сильно ускоряют оба этапа и закрепляют aa-тРНК настолько, что связывание при том же составе комплекса (после диссоциации EF-Tu × GDP) выглядит как необратимое в условиях опыта: вся внесенная aa-тРНК связывается с рибосомами и не обменивается с избытком aa-тРНК, добавленной в раствор в свободном виде или в тройном комплексе. Антибиотик тетрациклин ингибировал нефакторное связывание на первом этапе, уменьшая константу связывания в 10 раз. При EF-Tu × ГТФ-зависимом связывании тетрациклин только уменьшал скорость связывания aa-тРНК на несколько порядков величины, не меняя при этом конечный уровень связывания [53].

Ясно, что сильное закрепление аминоксил-тРНК является конечным результатом сложного процесса селекции aa-тРНК на А-сайте, завершением аккомодации, т. е. связыванием -ССА-конца aa-тРНК с А-сайтом пептидилтрансферазного центра непосредственно перед синтезом пептидной связи. Такая стабилизация комплекса на несколько порядков величины должна являться препятствием для транслокации. Детальное изучение стабильности А-сайтового комплекса до и после синтеза пептидной связи показало, что реакция транспептидации, в ходе которой гидролизует пептидил-тРНК, снимает это препятствие, понижая стабильность А-сайтового комплекса более чем на три порядка величины [54].

Таким образом, из 7 ккал/моль свободной энергии, запасенной в процессе аминокислирования тРНК, на синтез пептидной связи расходуется 0,5 ккал/моль, а около 4,3 ккал/моль используется в процессе элонгации для дестабилизации А-сайтового комплекса перед транслокацией [54].

Мы нашли также, что связывание тройного комплекса EF-Tu × GTP × aa-tRNA в состояние А/Т (до гидролиза ГТФ) и пруффридинг близкой по кодону aa-тРНК очень чувствительны к нарушениям обеих связей G18-U55 и G19-C56 (изменяют скорость и равновесие), в то время как аккомодация (переход от А/Т к конечному состоянию А/а) чувствительна только к нарушению G18-U55-связи [55].

Итак, установлена важная роль сохранения нативности центральной части молекулы тРНК в организации динамических взаимодействий, образующих промежуточные состояния, обеспечивающие движение тРНК как при транслокации, так и в ходе событий, контролируемых эффективностью и точностью трансляции.

На основе этих наблюдений предложен универсальный молекулярный механизм движения тРНК в рибосоме посредством изменения ее положения в процессе взаимодействия с переходными центрами рибосомы.

Конформеры тРНК и их роль в трансляции

В 1978 году мы обнаружили конформеры фенилаланиновой тРНК из *E. coli*, отличающиеся по сродству при кодон-зависимом связывании с рибосомами 70S на 5 порядков величины [56], изучили их взаимопревращения при физиологических условиях и предложили механизм транслокации в рибосоме, основанный на превращении связанного высокоаффинного конформера тРНК в низкоаффинный под действием фактора элонгации и ГТФ [57].

Так называемые нативные и денатурированные конформеры для некоторых тРНК были известны давно. Различали их по способности к аминоацилированию: нативные конформеры сразу аминоацилировались, а денатурированные надо было сначала реактивировать при 37 °С в присутствии ионов магния. Предполагалось, что денатурированные конформеры образуются в процессе выделения и очистки тРНК в результате потери одного или более ионов магния, участвующих в поддержании нативной структуры тРНК. Для многих тРНК, и в частности для фенилаланиновой из бактерий (в отличие от дрожжевой), таких конформеров не обнаружили. Однако предполагалось, что все тРНК могут образовывать конформеры, но денатурированные успевали реактивироваться уже в ходе аминоацилирования при температуре 37 °С, проводимого в присутствии ионов магния. Для обнаружения таких быстро взаимоконвертируемых конформеров мы использовали способность тРНК связываться с рибосомами при 0 °С, когда их взаимопревращения происходят медленно. Низкоаффинные конформеры мешали нам вести количественные измерения взаимодействия тРНК с рибосомами, т. к. всегда надо было определять и затем учитывать их долю в общей концентрации тРНК.

В работе с В. Б. Одинцовым [57] мы нашли условия полного превращения низкоаффинного конформера аминоацил-тРНК (Phe-тРНК

из *E. coli*) в высокоаффинный. Сделать это для пептидил-тРНК (AcPhe-тРНК) не удавалось. После любой обработки в препарате всегда присутствовала небольшая примесь низкоаффинного конформера AcPhe-тРНК, которая исчезала только при длительной инкубации в присутствии рибосом с матрицей. Ясно, что по мере связывания высокоаффинного конформера с рибосомами смещалось равновесие между конформерами AcPhe-тРНК в растворе, и в результате вся AcPhe-тРНК превращалась постепенно в высокоаффинный конформер и связывалась прочно с рибосомами [24].

Мы наблюдали и вторую интересную особенность – разницу в матрично-зависимом связывании аминоктил- и пептидил-тРНК на Р-сайте при различных температурах и, следовательно, различие в термодинамических параметрах связывания aa-тРНК и п-тРНК. В то время как зависимость Вант-Гоффа ($\log K$ versus $1/T$) для Phe-тРНК имела нормальный линейный характер во всем диапазоне температур, эта зависимость для AcPhe-тРНК была нелинейна. Наблюдался излом, и температура излома зависела от концентрации ионов магния. В отсутствие матрицы такой аномалии не наблюдали [58].

Отсюда мы сделали вывод, что разница в конформации антикодонной петли и стержня aa-тРНК и п-тРНК ответственна за изменение термодинамических параметров кодон-антикодонного взаимодействия [24].

Эти наблюдения поставили вопрос: не является ли конформеризация фундаментальным природным свойством тРНК, связанным с выполнением ею функций в рибосоме?

В проверке этой гипотезы (в 1982 году) приняли участие три лаборатории ОМРБ: Лаборатория биосинтеза белка, Лаборатория биофизики макромолекул и Лаборатория химического синтеза. Было выделено более 2 г индивидуальной фенилаланиновой тРНК *E. coli*, к которой пришили в 8-е положение (псевдоуридин) синтезированные полностью дейтерированные спиновые метки двух типов. И затем на сконструированном в Лаборатории биофизики макромолекул безмодуляционном ЭПР-спектрометре было показано, что тРНК всегда в растворе существует в виде равновесной смеси двух (по меньшей мере) конформеров. Причем их равновесие зависело не только от pH, ионной силы буфера и концентрации ионов магния, но, что самое важное, и от функционального состояния тРНК (tRNA^{Phe}, Phe-тРНК или AcPhe-тРНК) [59, 60].

Через 15 лет в Пенсильванском университете в лабораториях Купермана и Хохштрассера пришли к такому же выводу о существовании двух конформеров у тРНК^{Phe} на основе наблюдения неэкспоненци-

ального распада флуоресцентной метки в том же 8-м положении деацилированной фенилаланиновой тРНК из *E. coli*. На нас они почему-то не сослались. Ссылок на их работу в 2004 году было 98, а на нашу – только 2. Мы сделали эту работу слишком рано, и она прошла незамеченной. Все тРНК имеют L-образную форму и находятся в растворе в виде равновесной смеси двух конформеров. Различия в структуре конформеров невелики и обнаружены по поведению репортерских меток (спиновых и флуоресцентных), введенных в центральную часть L-образной молекулы (8-е положение). Однако эти изменения структуры тРНК приводят к существенным изменениям сродства тРНК к рибосоме. Благодаря им рибосомные сайты узнают функциональное состояние тРНК [37], и они могут играть определяющую роль в образовании промежуточных комплексов при движении тРНК в рибосоме.

Установленные в последние годы методом рентгенографии структуры многих рибосомных комплексов показывают, что тРНК на стационарных сайтах в рибосоме изменена не очень сильно по сравнению со структурой тРНК в кристалле.

Однако структура тРНК в промежуточных положениях как в процессе A-сайтового связывания (A/T-состояние), так и при транслокации, по данным криоэлектронной микроскопии, изменена значительно. Эти структурные изменения в центральной угловой части молекулы тРНК, как показали эксперименты с мутантными формами триптофановой тРНК (G24A и A9C), являются необходимым элементом для реализации селекции правильной аминоксил-тРНК в рибосоме.

Рибосома является сложным «динамическим молекулярным комплексом». Динамическая работа рибосомы (переходы в различные функциональные состояния в процессе синтеза белка) реализуется благодаря ее способности образовывать спонтанно различные конформации отдельных функциональных доменов, находящихся в равновесии друг с другом и разделенных невысокими активационными барьерами. Связывание различных лигандов (в частности, разных функциональных форм тРНК, белковых факторов элонгации с ГТФ) смещает равновесие между этими конформациями. Однонаправленность переходов по координате реакции обеспечивается гидролизом ГТФ. Характерный пример такого динамического механизма представляет процесс транслокации в рибосоме. Наблюдение поворота 30S субчастицы против часовой стрелки относительно 50S субчастицы при переходе из претранслокационного состояния в посттранслокационное, наблюдаемое методом криоэлектронной микроскопии, истолковывается часто как причина транслокации.

Однако недавно было показано, что наблюдаемое относительное вращение субчастиц, соответствующее этим двум функциональным состояниям, реализуется спонтанно за счет теплового движения и в отсутствие фактора элонгации [47]. Это означает, что связывание фактора элонгации EF-G стабилизирует конформацию промежуточного переходного состояния (ТЭС), при распаде которого образуется посттранслокационный комплекс. В недавней работе с участием А. Л. Коневеги [61] показано, что в промежуточном состоянии А/Т аминоацил-тРНК претерпевает значительные конформационные изменения в центральной области. Очевидно, что эти изменения вызваны взаимодействием с рибосомой и фактором элонгации и играют существенную роль в селекции правильной aa-тРНК. После гидролиза ГТФ и диссоциации фактора элонгации из рибосомы, т. е. исчезновения деформирующих взаимодействий, структура тРНК медленно возвращается в каноническую форму [61].

Если бы тРНК не была способна к спонтанным конформационным изменениям (равновесие конформеров), то она не могла бы вернуться (отрелаксировать) в исходную, наиболее устойчивую конформацию после снятия деформирующих ее взаимодействий с рибосомой и факторами. Это же справедливо и для рибосомы. Оба партнера должны обладать способностью спонтанно переходить благодаря тепловому движению из одного состояния в другое. Именно это обеспечивает возврат системы в исходное стационарное состояние в каждом цикле элонгации.

Таким образом, сегодня можно считать доказанным, что обнаруженная нами способность тРНК образовывать конформеры является ее фундаментальным свойством, необходимым для выполнения ею сложных динамических функций в рибосоме в процессе синтеза белка как на этапе селекции правильной аминоацил-тРНК, обеспечивающим низкий уровень ошибок, так и в избирательных взаимодействиях тРНК с функциональными сайтами рибосомы, обеспечивающими ее движение между сайтами в процессе синтеза.

Механизм пептидилтрансферазной реакции

В 2000 году на основе рентгеновской структуры 50S субчастицы в комплексе с аналогами субстратов пептидилтрансферазного центра группой Йельского университета, возглавляемой Томасом Стейцем (нобелевским лауреатом 2009 года), были сделаны выводы: 1) рибосома является рибозимом, т. к. «наблюдаемый» пептидилтрансферазный

центр состоял только из групп рибосомной 23S РНК и не было ни одной белковой группы ближе, чем 18 Å, от пептидилтрансферазного центра; 2) азот N₃ в A2451 рибосомной 23S РНК является ответственным за акцептирование протона от расположенной в 3-4 Å нуклеофильной аминогруппы и, следовательно, ответственным за химический катализ по кислотно-основному механизму. Вся совокупность данных указывает на прямое участие рибосомной РНК в катализе образования пептидной связи, и некоторое время казалось, что прямое участие рибосомной РНК в химическом катализе окончательно доказано этой работой. Однако установленная структура ПТЦ на большой субчастице была образована в артефактных условиях в присутствии спирта и из артефактных субстратов, и к тому же на неактивных рибосомах. В результате все факты, положенные в основу модели, оказались сомнительными или неверными.

Так, отсутствие белковых групп ближе 18 Å к ПТЦ противоречило нашим данным по кросслинкам азидоаденозина-76 Р-сайт-связанных тРНК с белком L27 в рибосомах бактерий *E. coli* [6, 62, 63].

Противоречие состояло в том, что активированный светом азидоаденозин может образовывать сшивки с группами, расположенными на расстоянии не более 2-4 Å, и, следовательно, белок L27 должен находиться в непосредственной близости от ПТЦ, никак не на расстоянии более 18 Å. Последующие рентгеновские структуры показали, что N-конец белка L27 расположен в виде вытянутой структуры непосредственно между -ССА-концами А- и Р-сайт-связанных тРНК. Так что вывод об отсутствии белка в ПТЦ оказался преждевременным, хотя L27 не может претендовать на прямое участие в катализе, т. к. его отсутствие не летально для бактерий [62].

Участие в катализе A2451 противоречило и нашим данным по кросслинкам 3'-концевых азидоаденозинов А- и Р-сайт-связанных тРНК. Мы наблюдали кросслинки с семью главными нуклеотидами 23S РНК, входящими в состав ПТЦ (A2062, C2063, U2506, U2584, U2585, C2601, A2602), а кросслинков с A2451 не было совсем [63, 64]. Это означало, что A2451 находится на значительном удалении от Р-сайтового субстрата в момент протекания реакции транспептидации.

Более того, было найдено, что рибосомы грамм-положительных бактерий *Mycobacterium smegmatis*, мутированные в позиции 2451, обладают значительной каталитической активностью *in vitro*. А мутации в этом нуклеотиде не приводят к летальности *M. smegmatis* в отличие от *E. coli* [65]. Все это свидетельствовало в пользу того, что A2451 не принимает участия в механизме катализа непосредственно, а, скорее

всего, вовлечен в структурную организацию ПТЦ, что необходимо, вероятно, для быстрого и точного позиционирования субстратов [4, 65, 66]. На сегодняшний день считается общепринятым вывод публикации авторского коллектива из ведущих лабораторий четырех стран (Германии, Швейцарии, США и России – наша лаборатория): рибосома является рибозимом, т. е. катализ осуществляет рибосомная 23S РНК в основном за счет сближения и позиционирования субстратов [65]. Такой эксклюзивный механизм катализа образования пептидной связи рибосомной РНК возможен только потому, что основную энергию связывания «сложных субстратов» аминоктил- и пептидил-тРНК обеспечивает их взаимодействие с 30S субчастицей, как мы показали ранее [24, 25, 39], которое позволяет [8, 67] паромоцину, гигромицину В [67], амиоумацину А [68] – «истинным субстратам» – -ССА-концам обеих тРНК стабильно позиционироваться в активном ПТЦ.

Антибиотик, ингибирующий аминоацилирование тРНК, – пурпурамицин

Антибиотик пурпурамицин является мощным ингибитором синтеза белка и останавливает рост большинства патогенных микроорганизмов. Однако низкая растворимость его в водных растворах сильно ограничивала применение антибиотика, и долгое время не удавалось даже определить мишень его действия. Мы установили, что антибиотик образует обратимый комплекс со многими (возможно со всеми) тРНК и ингибирует их аминоацилирование [69]. Одновременно решена и проблема низкой растворимости антибиотика: в комплексе с тРНК пурпурамицин растворим, что открывает возможность широкого использования его в терапевтических целях.

Другие существенные результаты работы лаборатории

Нами внесены существенные уточнения в механизмы действия 17 антибиотиков – ингибиторов различных стадий синтеза белка в рибосомах, что отражено в статьях по тетрациклину [53], канамицину [70], едеину [29, 71], пуромицину [48–50, 72–74], пристинамицину IA [75], спарсомицину [64, 76], хлорамфениколу, пристинамицину IIА, гоугеротину, линкомицину, спирамицину [64], тиострептону [77], виомицину и спектиномицину.

Результаты исследований и предложенные механизмы действия этих антибиотиков суммированы в двух обзорах [78, 79].

Наше участие в детализации процесса образования 70S-иницирующего комплекса представлено в работах [7, 9, 80–84].

Нами изобретен новый метод препаративного разделения субчастиц рибосом посредством гидрофобной хроматографии (без использования препаративных ультрацентрифуг) [85], препаративный метод очистки инициаторной fMet-тРНК [86] и некоторые другие методы [82, 87].

Заключение

С самого начала исследования рибосом и синтеза белка мы разрабатывали и применяли количественные методы наблюдения и анализа процессов, протекающих в рибосоме по обычным термодинамическим законам и при отсутствии какой-либо исключительности по сравнению с другими биологическими системами. В итоге многие результаты нашей лаборатории в свое время прошли этапы восприятия от невероятного до очевидного. Вначале: так не может быть, потому что у всех так не получается, а по истечении времени – до общепринятого, и значит, тривиального. И все же некоторые наши результаты до сих пор недооценены и игнорируются. В первую очередь это относится к изученной нами количественно термодинамики взаимодействия функциональных форм тРНК с рибосомными сайтами. Неучет количественной стороны в изучении взаимодействия рибосомы с тРНК и факторами элонгации привел к появлению различных популярных моделей, не имеющих под собой реально значащих экспериментальных фактов. Прежде всего это относится к игнорированию неравного вклада субчастиц в энергию взаимодействия тРНК с сайтами рибосомы. В результате была переоценена, даже гипертрофирована, роль образования гибридных состояний в процессе транслокации. Образование гибридных состояний без всяких оснований выделено даже Рамакришнаном в отдельный этап в цикле элонгации, предшествующий связыванию с рибосомой EF-G с ГТФ [1]. Недооценке наших термодинамических данных по взаимодействию тРНК с рибосомой обязана и популярность механистических моделей транслокации, представляющих рибосому как *molecular Brownian ratchet machine*, что, строго говоря, противоречит законам термодинамики.

Действие большинства антибиотиков, широко применяемых для терапевтических целей, прямо или косвенно связано с ингибированием синтеза белков в рибосоме. Установление пространственной структуры активных рибосомных комплексов открывает сегодня широкие возмож-

ности как для целенаправленного изменения уже известных антибиотиков, так и для поиска новых эффективных ингибиторов синтеза.

Еще более перспективным является изучение роли рибосом в регуляции важнейших процессов в живой клетке, таких, например, как развитие вирусных инфекций.

С установлением генетического кода и механизма его считывания в рибосоме, казалось бы, не было причин сомневаться в универсальности трансляции. Триплеты, кодирующие определенную аминокислоту, должны были бы считываться одинаково, независимо от их местоположения в информационной РНК. Однако оказалось, что это не так. Рибосома может в некоторых случаях сдвинуть рамку считывания мРНК в обоих направлениях (frameshifting), пропустить целые блоки нуклеотидов без считывания (bypassing), изменить значение определенных кодонов, обычно терминирующих (suppression, read-through), или даже сменить мРНК (trans-translation, tmRNA). Эти события динамического репрограммирования трансляции под общим названием «перекодирование» (recoding) являются сложным дополнением к стандартному декодированию. Рекодирование позволяет запустить синтез новых белков в ответ на определенные сигналы извне или приводит к синтезу двух разных белков в определенной пропорции по одной и той же мРНК (один в результате нормального декодирования, другой со сдвигом рамки считывания). Такие явления выполняют регуляторную роль при некоторых ретровирусных инфекциях (включая вирус иммунодефицита человека и коронавируса, вызывающий острый респираторный синдром), и поэтому их детальное изучение, несомненно, позволит разработать принципиально новый класс специфических лекарств против вирусных инфекций.

Механизм биосинтеза белка является одним из самых сложных процессов в живой клетке. Но роль рибосом не ограничивается только синтезом белков. Рибосомы играют активную роль не только в развитии вирусных инфекций, но и в регуляции большинства клеточных процессов, включая клеточный метаболизм, связанный с выживанием клетки при изменении внешних условий, аминокислотном, кислородном и глюкозном голодании, при стрессовых ситуациях. Только 1,5 % клеточного генома кодирует структурные белки (мРНК для их синтеза в рибосомах, транспортные и рибосомные РНК). Остальные 98,5 % генома кодируют короткие и длинные некодирующие РНК, выполняющие регуляторные функции, определяющие, что, где, когда и в какой последовательности должно происходить в клетке. Если главным событием XX столетия в биологии можно считать расшифровку генома человека

и многих других организмов, то XXI столетие будет посвящено изучению роли некодирующих РНК в реализации генетической информации, регуляции различных клеточных процессов.

Уже первая декада столетия ознаменовалась общепризнанным открытием принципиально нового механизма регуляции активности геномов с участием так называемых сенсорных РНК, или рибопереключателей, сделанным в нашем Институте группой ведущего научного сотрудника доктора химических наук Д. А. Перумова Лаборатории биополимеров ОМРБ в коллаборации с московскими и зарубежными коллегами*.

После открытия первого рибопереключателя, структурного элемента РНК, регулирующего гены синтеза рибофлавина, за прошедшее десятилетие открыты около 20 классов натуральных рибопереключателей, охватывающих широкий спектр низкомолекулярных метаболитов и ионов, осуществляющих регуляторный контроль транскрипции, трансляции, сплайсинга и стабильности РНК.

Рибопереключатели имеют специфическую структуру (аптамер; минимальный размер найденного аптамера всего 34 нуклеотида), которая определяет их высокую селективность при связывании низкомолекулярных молекул (аффинность в пределах нескольких пикомолей), что ранее считалось прерогативой только белковых молекул. Аптамер, расположенный с 5'-стороны от транслируемой области, при связывании своего метаболита изменяет структуру следующей за ним платформы и включает или выключает терминацию трансляции, регулируя таким образом экспрессию генов для синтеза этого метаболита и даже соседних генов. В основе этого свойства рибопереключателей лежит их способность образовывать третичные взаимодействия с удаленными нуклеотидами, стабилизировать и изменять третичную структуру не только РНК, но и таких сложных образований, как рибосома.

Фактически первый рибопереключател был найден в 1974 году в структуре фенилаланиновой тРНК из дрожжей. Это ТΨС-петля (Т-петля, Т-мотив) – абсолютно консервативная последовательность, присутствующая во всех тРНК, функция которой была непонятна до последнего времени. Затем Т-мотивы были найдены в целом ряде неко-

* *Gelfand V.S., Mironov A.A., Jomantas J., Kozlov Y.I., Perumov D.A. A Conserved RNA Structure Element Involved in the Regulation of Bacterial Riboflavin Synthesis Genes // Trends Genet. 1999. V. 15. P. 439–442; Mironov A.S., Gusarov I., Rafikov R., Lopez L.E., Shatalin K., Kreneva R.A., Perumov D.A., Nudler E. Sensing Small Molecules by Nascent RNA: a Mechanism to Control Transcription in Bacteria // Cell. 2002. V. 111. P. 747–756.*

дирующих РНК, включая трансфер-мРНК, рибонуклеазу Р, целый ряд рибопереключателей. Теперь найдены 23 Т-мотива в рибосомных 5S, 16S и 23S РНК термофилов и других бактерий.

Нет сомнений, что именно рибопереключатели играют главную роль в реализации динамических макромолекулярных преобразований в ходе синтеза белка в рибосомах и представляют заманчивую новую цель для создания нового класса антибиотиков. Так оказалось, что целью одного из известных антибиотиков руритиамина является тиамипиррифосфат рибопереключателем (TPP riboswitch).

Над этими проблемами и работает активно в настоящее время Лаборатория биосинтеза белка ОМРБ, о чем свидетельствуют недавние публикации, посвященные различным аспектам изучения сдвига рамки считывания, рекодирования и регуляции жизнедеятельности клетки [77, 88–101].

Библиография работ по механизмам биосинтеза белка, выполненных в ОМРБ

- 1–11. Публикации приведены в тексте статьи.
12. *Bresler S., Grajevskaja R., Kirillov S., Saminski E., Shutov F.* Peptidyl-Transfer RNA: an Intermediate in Protein Biosynthesis // *Biochim. Biophys. Acta.* 1966. V. 123. P. 534–545.
13. *Bresler S., Grajevskaja R., Kirillov S., Saminski E.* Stability of Peptidyl-tRNA – Intermediate in Protein Synthesis // *Biochim. Biophys. Acta.* 1968. V. 155. P. 465–475.
14. *Odinzov V.B., Kirillov S.V.* Interaction of N-AcPhe-tRNA with 70S Ribosomes of *E. coli* // *Nucleic Acids Res.* 1978. V. 5. P. 3871–3879.
15. *Grajevskaja R.A., Saminsky E.M., Bresler S.E.* Interaction of Transfer RNA with Ribosomes in the Absence of Messenger RNA // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1972. V. 46. P. 1106–1112.
16. *Grajevskaja R.A., Saminsky E.M., Bresler S.E.* Effect of tRNA Aminoacylation on Its Interaction with Ribosomes in the Absence of Messenger // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1972. V. 49. P. 635–640.
17. *Grajevskaja R.A., Odinzov V.B., Saminsky E.M., Bresler S.E.* Interaction of Transfer RNA with the 30S Subunits of Ribosomes in the Absence of Messenger // *FEBS Lett.* 1973. V. 33. P. 11–14.
18. *Бреслер С. Е., Граевская Р. А., Иванов Ю. В., Саминский Е. М.* Изучение взаимодействия тРНК с 50S субчастицами рибосом *E. coli* в отсутствие матрицы // *Мол. биол.* 1976. Т. 10. С. 777–784.
19. *Бреслер С. Е., Кириллов С. В., Пешин Н. Н., Семенов Ю. П.* Инактивация рибосомных субчастиц при высокой скорости центрифугирования // *Докл. АН СССР.* 1977. Т. 236. С. 467–470.
20. *Кириллов С. В., Махно В. И., Пешин Н. Н., Семенов Ю. П.* Причины гетерогенности 30S рибосомных субчастиц *in vitro*. I. Эффект высоких скоростей

центрифугирования при выделении 30S рибосомных субчастиц на их способность связывать специфическую тРНК // Мол. биол. 1978. Т. 12. С. 602–611.

21. *Пешин Н. Н., Кириллов С. В.* Природа гетерогенности 30S рибосомных субчастиц. II. Два типа инактивации субчастиц рибосом *Escherichia coli* // Мол. биол. 1979. Т. 13. С. 752–760.

22. *Жученко О. П., Семенов Ю. П., Кириллов С. В.* Влияние соотношения концентраций двух- и одновалентных катионов на функциональную активность 30S субчастиц рибосом *Escherichia coli* // Мол. биол. 1987. Т. 21. С. 266–274.

23. *Dobithchin P., Kirillov S., Noskin V., Peshin N.* Correlation between Biological Activity of 30S Subunits of *Escherichia coli* Ribosomes and Their Conformation Changes Revealed by Mixing Optical Spectroscopy // Biophys. Chem. 1983. V. 17. P. 165–168.

24. *Кириллов С. В.* Механизм кодон-антикодонного взаимодействия в рибосомах // Итоги науки и техн.: сер. биол. химия. М.: ВИНТИ, 1983. Т. 18. Вып. 2. С. 5–98.

25. *Kirillov S.V., Makhno V.I., Semenov Yu.P.* Mechanism of Codon-Anticodon Interaction in Ribosomes. Direct Functional Evidence That Isolated 30S Subunits Contain Two Codon-Specific Sites for Transfer RNA // Nucleic Acids Res. 1980. V. 8. P. 183–196.

26. *Махно В. И., Пешин Н. Н., Семенов Ю. П., Кириллов С. В.* Модифицированный способ получения “TIGHT” 70S рибосом из *E. coli*, высокоактивных в отдельных стадиях цикла элонгации // Мол. биол. 1988. Т. 22. С. 670–679.

27. *Саминский Е. М., Граевская Р. А., Иванов Ю. В.* Рибосома 70S содержит дополнительный сайт для деацелированной тРНК, не совпадающий с А- и Р-сайтами // Матер. I Всесоюз. симпозиума «Реализация наследственной информации»: тез. докл. Паланга, август 1980. С. 91.

28. *Grajevskaja R.A., Ivanov V.V., Saminsky E.M.* 70S Ribosomes of *E. coli* Have an Additional Site for Deacylated tRNA // Eur. J. Biochem. 1982. V. 128. P. 47–52.

29. *Kirillov S.V., Makarov E.M., Semenov Yu.P.* Quantitative Study of Interaction of Deacylated tRNA with *E. coli* Ribosomes. Role of 50S Subunits in Formation of the E Site // FEBS Lett. 1983. V. 157. P. 91–94.

30. *Парфенов Д. В., Саминский Е. М.* Дезацелированная тРНК связывается с 50S субчастицей рибосом *E. coli* на специальный участок, не совпадающий с участком P' // Мол. биол. 1984. Т. 19. С. 1378–1385.

31. *Kirillov S.V., Semenov Yu.P.* Non-Exclusion Principle of AcPhe-tRNA Interaction with the Donor and Acceptor Sites of *E. coli* Ribosomes // FEBS Lett. 1982. V. 148. P. 235–238.

32. *Kirillov S.V., Semenov Yu.P.* Extension of Watson's Model for the Elongation Cycle of Protein Biosynthesis // J. Biomol. Struct & Dyn. 1986. V. 4. P. 263–269.

33. *Semenkov Yu.P., Kirillov S.V., Stahl J.* 40S Subunits from Rat Liver Ribosomes Contain Two Codon-Dependent Sites for Transfer RNA // FEBS Lett. 1985. V. 193. P. 105–108.

34. *Rodnina M.V., El'skaya A.V., Semenov Yu.P., Kirillov S.V.* Number of tRNA Binding Sites on 80S Ribosomes and Their Subunits // FEBS Lett. 1988. V. 231. P. 71–74.

35. *Rodnina M.V., El'skaya A.V., Semenov Yu.P., Kirillov S.V.* Interaction of tRNA with the A and P Sites of Rabbit-Liver 80S Ribosomes and Their 40S Subunits // Eur. J. Biochem. 1989. V. 185. P. 563–568.

36. *Katunin V.I., Semenov Yu.P., Makhno V.I., Kirillov S.V.* Comparative Study of the Interaction of Polyuridylic Acid with 30S Subunits and 70 S Ribosomes of *Escherichia coli* // *Nucleic Acids Res.* 1980. V. 8. P. 403–421.

37. *Макаров Е. М., Катунин В. И., Одинцов В. Б., Семенов Ю. П., Кириллов С. В.* Как участки связывания рибосом различают функциональные формы тРНК? // *Мол. биол.* 1984. Т. 18. С. 1342–1347.

38. *Кириллов С. В., Семенов Ю. П.* Взаимодействие тРНК с рибосомами // *Мол. биол.* 1984. Т. 18. С. 1013–1025.

39. *Nekhai S.A., Parfenov D.V., Saminsky E.M.* tRNA Regions Which Contact with the Ribosomal poly(U)-Programmed P Site // *Biochim. Biophys. Acta.* 1994. V. 1218. P. 481–484.

40. *Алдошин В. Г., Бреслер С. Е., Саминский Е. М.* Термодинамика перехода спираль-клубок в белках // *Высокомолекулярные соединения.* 1962. Т. 4. С. 1118–1123.

41. *Катунин В. И., Кириллов С. В.* Связывание фенилаланиновой тРНК из дрожжей с рибосомами *Escherichia coli*. Влияние удаления модифицированного основания с 3'-стороны антикодона на кодон-антикодонное взаимодействие // *Мол. биол.* 1984. Т. 18. С. 1486–1496.

42. *Katunin V., Soboleva N., Makhno V., Sedelnikova E., Zhenodarova S., Kirillov S.* Effect of the Nucleotide-37 on the Interaction of tRNA^{Phe} with the P Site of *Escherichia coli* Ribosomes // *Biochimie.* 1994. V. 76. P. 51–57.

43. *Соболева Н. Г., Махно В. И., Коневага А. Л., Семенов Ю. П., Катунин В. И.* Влияние модифицированного нуклеотида в положении 37 на взаимодействие аминоацил-тРНК с А-сайтом 70S рибосомы // *Мол. биол.* 2003. Т. 37. С. 110–115.

44. *Konevega A.L., Soboleva N.G., Makhno V.I., Semenov Yu.P., Wintermeyer W., Rodnina M.V., Katunin V.I.* Purine Bases at Position 37 of tRNA Stabilize Codon-Anticodon Interaction in the Ribosomal A Site by Stacking and Mg²⁺-Dependent Interactions // *RNA.* 2004. V. 10. Iss. 1. P. 90–101.

45. *Коневага А. Л., Соболева Н. Г., Махно В. И., Пешехонов А. В., Катунин В. И.* Влияние модификации нуклеотида 37 на взаимодействие тРНК с Р- и А-сайтами 70S рибосом *Escherichia coli* // *Мол. биол.* 2006. Т. 40. С. 669–683.

46. *Konevega A.L., Fisher N., Semenov Yu.P., Stark H., Wintermeyer W., Rodnina M.V.* Spontaneous Reverse Movement of mRNA-bound tRNA Through the Ribosome // *Nature Struct. Mol. Biol.* 2007. V. 14. P. 318–324.

47. *Fisher N., Konevega A.L., Wintermeyer W., Rodnina M.V., Stark H.* Ribosome Dynamics and tRNA Movement as Visualized by Time-Resolved Electron Cryomicroscopy // *Nature.* 2010. V. 466. P. 329–333.

48. *Semenkov Y.P., Shapkina T.G., Kirillov S.V.* Puromycin Reaction at the Ribosomal A Site. Preprint LNPI 1495. Leningrad, 1989. 18 p.

49. *Semenkov Yu., Shapkina T., Makhno V., Kirillov S.* Puromycin Reaction for the A Site-Bound Peptidyl-tRNA // *FEBS Lett.* 1992. V. 296. P. 207–210.

50. *Semenkov Yu.P., Shapkina T.G., Kirillov S.V.* Puromycin Reaction of the A-Site Bound Peptidyl-tRNA // *Biochimie.* 1992. V. 74. Iss. 5. P. 411–417.

51. *Pan D., Kirillov S., Zhang C.-M., Hou Y.-M., Cooperman B.S.* Rapid Ribosomal Translocation Depends on the Conserved 18–55 Base Pair in P-Site Transfer RNA // *Nature Struct. Mol. Biol.* 2006. V. 13. P. 354–359.

52. *Kemkhadze K.S., Odintsov V.B., Semenov Yu.P., Kirillov S.V.* Quantitative Study of the Interaction of Aminoacyl-tRNA with the A Site of *E. coli* Ribosomes. Equilibrium and Kinetic Parameters of Binding in the Absence of EF-Tu Factor and GTP // FEBS Lett. 1981. V. 125. P. 10–14.

53. *Semenov Yu.P., Makarov E.M., Makhno V.I., Kirillov S.V.* Kinetic Aspects of Tetracycline Action on the Acceptor (A) Site of *E. coli* Ribosomes // FEBS Lett. 1982. V. 144. P. 125–129.

54. *Semenov Yu.P., Rodnina M.V., Wintermeyer W.* Energetic Contribution of tRNA Hybrid State Formation to Translocation Catalysis on the Ribosome // Nature Struct. Biol. 2000. V. 7. P. 1027–1031.

55. *Pan D., Zhang C.-M., Kirillov S., Hou Y.-M., Cooperman B.S.* Perturbation of the tRNA Tertiary Core Differentially Affects Specific Steps of the Elongation Cycle // J. Biol. Chem. 2008. V. 283. P. 18431–18440.

56. *Kirillov S.V., Makhno V.I., Odinzov V.B., Semenov Yu.P.* The Mechanism of Codon-Anticodon Interaction in Ribosomes. Heterogeneity of tRNA Complexes with 70S Ribosomes of *Escherichia coli* // Eur. J. Biochem. 1978. V. 89. P. 305–313.

57. *Kirillov S.V., Odinzov V.B.* The Interconversion of Conformers of Phenylalanyl-tRNA with Different Affinity to 70S Ribosomes of *E. coli* // Nucleic Acids Res. 1978. V. 5. P. 1501–1514.

58. *Kirillov S.V., Katunin V.I., Semenov Y.P.* Mechanism of Codon-Anticodon Interaction in Ribosomes. Comparative Study of Interaction of Phe-tRNA and AcPhe-tRNA with the Donor Site of *Escherichia coli* Ribosomes // FEBS Lett. 1981. V. 125. P. 15–18.

59. *Бодарев Г., Исаев-Иванов В., Исаева-Иванова Л., Кириллов С., Клейнер А., Лепехин В., Фомичев В.* Изучение конформационного состояния транспортной РНК(Phe) из *Escherichia coli* в растворе методом ЭПР-спектроскопии без модуляции // Мол. биол. 1982. Т. 16. С. 352–362.

60. *Bondarev G.N., Isaev-Ivanov V.V., Isaeva-Ivanova L.S., Kirillov S.V., Kleiner A.R., Lepekhin A.F., Odinzov V.B., Fomichev V.N.* Study on Conformational States of *E. coli* tRNAPhe in Solution by a Modulation-Free ESR-Spectrometer // Nucleic Acids Res. 1982. V. 10. P. 1113–1126.

61. *Mittelstaet J., Konevega A.L., Rodnina M.V.* Distortion of tRNA Upon Near-Cognate Codon Recognition on the Ribosome // J. Biol. Chem. 2001. V. 286. P. 8158–8164.

62. *Wower J., Wower I.K., Kirillov S.V., Rosen K.V., Hixson S.S., Zimmermann R.A.* Peptidyl Transferase and Beyond // Biochem. Cell Biol. 1995. V. 73. P. 1041–1047.

63. *Wower J., Kirillov S.V., Wower I.K., Guven S., Hixson S.S., Zimmermann R.A.* Transit of the 3' end of tRNA to Specific Nucleotides of the 23S Ribosomal RNA at the A, P, and E Sites // J. Biol. Chem. 2000. V. 275. P. 37887–37894.

64. *Kirillov S.V., Porse B.T., Garrett R.A.* Peptidyl Transferase Antibiotics Perturb the Relative Positioning of the 3'-Terminal Adenosine of P/P'-Site-Bound tRNA and 23S rRNA in the Ribosome // RNA. 1999. V. 5. P. 1003–1013.

65. *Beringer M., Bruel Ch.B., Xiong L., Pfister P., Bieling P., Katunin V.I., Mankin A.S., Botter E.C., Rodnina M.V.* Essential Mechanism in the Catalysis of Peptide Bond Formation on the Ribosome // J. Biol. Chem. 2005. V. 280. P. 36065–36072.

66. Hesslein A.E., Katunin V.I., Beringer M., Kosek A.B., Rodnina M.V., Strobel S.A. Exploration of the Conserved A+C Wobble Pair within the Ribosomal Peptidyl Transferase Center Using Affinity Purified Mutant Ribosomes // *Nucleic Acids Res.* 2004. V. 32. P. 3760–3770.
67. Kirillov S., Vitali L.A., Goldstein B.P., Monti F., Semenov Yu., Makhno V.I., Ripa S., Pon C.L., Gualerzi C.O. Purpuromycin: an Antibiotic Inhibiting tRNA Aminoacylation // *RNA.* 1997. V. 3. P. 905–913.
68. Semenov Yu.P., Katunin V.I., Makarov E.M., Kirillov S.V. Quantitative Study of Kanamycin Action on Different Functions of *Escherichia coli* Ribosomes // *FEBS Lett.* 1982. V. 144. P. 121–124.
69. Семенов Ю. П., Махно В. И., Макаров Е. М., Кириллов С. В. Особенности влияния антибиотика эдзина на взаимодействие тРНК с участками А, Р и Е 70S рибосом *Escherichia coli* // *Мол. биол.* 1984. Т. 18. С. 1348–1351.
70. Иванов Ю. В., Саминский Е. М. Пурамицин взаимодействует с донорным (Р) участком рибосом *Escherichia coli* // *Мол. биол.* 1984. Т. 18. С. 1301–1305.
71. Ivanov Y.V., Saminsky E.M. Puromycin Binding to the Donor (P) Site of *Escherichia coli* Ribosomes // *Biochim. Biophys. Acta.* 1984. V. 800. P. 203–206.
72. Rodrigues-Fonseca C.R., Phan H., Long K.S., Porse B.T., Kirillov S.V., Amils R., Garrett R.A. Puromycin-rRNA Interaction Sites at the Peptidyl Transferase Center // *RNA.* 2000. V. 6. P. 744–754.
73. Porse B.P., Kirillov S.V., Awayez M.J., Garrett R.A. UV-Induced Modifications in the Peptidyl Transferase Loop of 23S rRNA Dependent on Binding of the Streptogramin B Antibiotic, Pristinamycin IA // *RNA.* 1999. V. 5. P. 585–595.
74. Porse B.P., Kirillov S.V., Awayez M.J., Ottenheijm H.C.J., Garrett R.A. Direct Crosslinking of the Antitumor Antibiotic Sparsomycin, and Its Derivatives, to A2602 in the Peptidyl Transferase Center of 23S-Like rRNA within Ribosome-tRNA Complexes // *PNAS USA.* 1999. V. 96. P. 9003–9008.
75. Rodnina M.V., Savelsbergh A., Matassova N.B., Katunin V.I., Semenov Yu.P., Wintermeyer W. Thiostrepton Inhibits the Turnover but not the GTPase of Elongation Factor G on the Ribosome // *PNAS USA.* 1999. V. 96. P. 9586–9590.
76. Peske F., Savelsbergh A., Katunin V.I., Rodnina M.V., Wintermeyer W. Conformational Changes of the Small Ribosomal Subunit During Elongation Factor G-Dependent tRNA-mRNA Translocation // *J. Mol. Biol.* 2004. V. 343. P. 1183–1194.
77. Polikanov Y.S., Osterman I.A., Szai T., Tashitsky V.N., Serebryakova M.V., Kusochek P., Bulkley D., Malanicheva I.A., Efimenko T.A., Efremenkova O.V., Konevega A.L., Shaw K.J., Bogdanov A.A., Rodnina M.V., Dontsova O.A., Mankin A.S., Steitz T.A., Sergiev P.V. Amicoumacin A Inhibits Translation by Stabilizing mRNA Interaction with the Ribosome // *Mol. Cell.* 2014. V. 56. P. 531–540.
78. Kirillov S.V., Porse B.T., Vester B., Wooley P., Garrett R.A. Movement of the 3'-end of tRNA Through the Peptidyl Transferase Centre and Its Inhibition by Antibiotics // *FEBS Lett.* 1997. V. 406. P. 223–233.
79. Porse B.P., Kirillov S.V., Garrett R.A. Antibiotics and the Peptidyl Transferase Center in: *The Ribosome: Structure, Antibiotics, and Cellular Interactions* / Ed. by R.F. Garrett, S.R. Douthwaite, A. Liljas, A.T. Matheson, P.B. Moore, H.F. Noller. Washington, DC: ASM Press, 2000. P. 441–449.

80. Philippe C., Behard L., Eyrman F., Cachia C., Kirillov S.V., Portier C., Ehresmann B., Ehresmann C. Structural Elements of rps0 mRNA Involved in the Modulation of Translational Initiation and Regulation of *E. coli* Ribosomal Protein S15 // *Nucleic Acids Res.* 1994. V. 22. P. 2538–2546.

81. Marzi S., Knight W., Brandi L., Caserta E., Soboleva N., Hill W.E., Gualerzi C.O., Lodmell J.S. Ribosomal Localization of Translation Initiation Factor IF2 // *RNA.* 2003. V. 9. P. 958–969.

82. Milon P., Konevega A.L., Peske F., Fabretti A., Gualerzi C.O., Rodnina M.V. Transient Kinetics, Fluorescence, and FRET in Studies of Initiation of Translation in Bacteria // *Methods in Enzymology.* 2007. V. 430. P. 1–30.

83. Milon P., Konevega A.L., Gualerzi C.O., Rodnina M.V. Kinetic Check Point at the Late Step in Translation Initiation // *Mol. Cell.* 2008. V. 30. P. 712–720.

84. Milon P., Konevega A.L., Wintermeyer W., Rodnina M.V., Gualerzi C.O. The Ribosome-Bound Initiation Factor 2 Recruits Initiator tRNA to the 30S Initiation Complex // *EMBO Rep.* 2010. V. 11. P. 312–316.

85. Kirillov S.V., Makhno V.I., Peshin N.N., Semenov Yu.P. Separation of Ribosomal Subunits of *Escherichia coli* Ribosome by Sepharose Chromatography Using Reverse Salt Gradient // *Nucleic Acids Res.* 1978. V. 5. P. 4305–4315.

86. Rodnina M.V., Semenov Y.P., Wintermeyer W. Purification of fMet-tRNA(fMet) by Fast Protein Liquid Chromatography // *Anal. Biochem.* 1994. V. 219. P. 380–381.

87. Juzumine D., Shapkina T., Kirillov S., Wollenzien P. Short-Range RNA-RNA Crosslinking Methods to Determine Structure and Interactions // *Methods.* 2001. V. 25. P. 333–343.

88. Caliskan N., Katunin V.I., Belardinelli R., Peske F., Rodnina M.V. Programmed –1 Frameshifting by Kinetic Partitioning during Impeded Translocation // *Cell.* 2014. V. 157. Iss. 7. P. 1619–1631.

89. Samatova E., Konevega A.L., Wills N.M., Atkins J.F., Rodnina M.V. High-Efficiency Translational Bypassing of Non-Coding Nucleotides Specified by mRNA Structure and Nascent Peptide // *Nat. Commun.* 2014. V. 5. P. 4459.

90. Holtkamp W., Cunha C.E., Peske F., Konevega A.L., Wintermeyer W., Rodnina M.V. GTP Hydrolysis by EF-G Synchronizes tRNA Movement on Small and Large Ribosomal Subunits // *EMBO J.* 2014. V. 33. P. 1073–1085.

91. Mittelstaet J., Konevega A.L., Rodnina M.V. A Kinetic Safety Gate Controlling the Delivery of Unnatural Amino Acids to the Ribosome // *J. Am. Chem. Soc.* 2014. V. 135. P. 17031–17038.

92. Rezgui V.A., Tyagi K., Ranjan N., Konevega A.L., Mittelstaet J., Rodnina M.V., Peter M., Pedrioli P.G. tRNA tKUUU, tQUUG, and tEUUC Wobble Position Modifications Fine-Tune Protein Translation by Promoting Ribosome A-Site Binding // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013. V. 110. P. 12289–12294.

93. Paleskava A., Konevega A.L., Rodnina M.V. Thermodynamics of the GTP-GDP-Operated Conformational Switch of Selenocysteine-Specific Translation Factor SelB // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. P. 27906–27912.

94. Wohlgemuth I., Pohl C., Mittelstaet J., Konevega A.L., Rodnina M.V. Evolutionary Optimization of Speed and Accuracy of Decoding on the Ribosome // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci.* 2011. V. 366. P. 2979–2986.

95. Burakovsky D.E., Sergiev P.V., Steblyanko M.A., Konevega A.L., Bogdanov A.A., Dontsova O.A. The Structure of Helix 89 of 23S rRNA Is Important for Peptidyl Transferase Function of *Escherichia coli* Ribosome // FEBS Lett. 2011. V. 585. P. 3073–3078.

96. Mittelstaet J., Konevega A.L., Rodnina M.V. Distortion of tRNA Upon Near-Cognate Codon Recognition on the Ribosome // J. Biol. Chem. 2011. V. 286. Iss. 10. P. 8158–8164.

97. Burakovsky D.E., Sergiev P.V., Steblyanko M.A., Kubarenko A.V., Konevega A.L., Bogdanov A.A., Rodnina M.V., Dontsova O.A. Mutations at the Accommodation Gate of the Ribosome Impair RF2-Dependent Translation Termination // RNA. 2010. V. 16. P. 1848–1853.

98. Byrne R.T., Konevega A.L., Rodnina M.V., Antson A.A. The Crystal Structure of Unmodified tRNA^{Phe} from *Escherichia coli* // Nucleic Acids Res. 2010. V. 38. P. 4154–4162.

99. Paleskava A., Konevega A.L., Rodnina M.V. Thermodynamic and Kinetic Framework of Selenocysteyl-tRNA^{Sec} Recognition by Elongation Factor SelB // J. Biol. Chem. 2010. V. 285. P. 3014–3020.

100. Fisher N., Neumann P., Konevega A.L., Bock L.V., Ficher R., Rodnina M.V., Stark H. Structure of the *E. coli* Ribosome-EF-Tu Complex at < 3 Å Resolution by Cs-Corrected Cryo-EM // Nature. 2015. V. 520. P. 567–570.

101. Byrne R.T., Jenkins H.T., Peters D.T., Whelan F., Stowell J., Aziz N., Katsatsky P., Rodnina M.V., Koonin E.V., Konevega A.L., Antson A.A. Major Reorientation of tRNA Substrates Defines Specificity of Dihydrouridine Synthases // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2015. V. 112. P. 6033–6037.

Послесловие

В 1945 году на физико-механическом факультете ЛПИ была открыта одна из первых в стране кафедр подготовки специалистов по ядерной физике – кафедра технической физики. В 1951 году она была разделена на кафедры экспериментальной ядерной физики и физики изотопов. Последней руководил Б. П. Константинов, а профессором кафедры был С. Е. Бреслер. На кафедре готовили специалистов по разделению изотопов и по другим проблемам прикладной радиохимии.

С присущими ему энциклопедизмом и лекторским мастерством Бреслером в начале 1950-х годов был создан прекрасный курс лекций по радиохимии, послуживший основой для его монографии «Радиоактивные элементы», которая выдержала три издания. Сравнительно новая область науки будоражила умы наиболее пытливей и талантливой части молодежи страны, ринувшейся тогда в ЛПИ за удовлетворением своего необузданного интереса к непознанным тайнам мироздания, материи. Многих из них будущая специальность «физика изотопов» привлекала перспективой возможного открытия новых элементарных частиц, они еще не ведали того, что на старших курсах их поджидает

сказочная красота новой науки – молекулярной биологии – в изложении блестящего лектора С. Е. Бреслера.

В разное время среди студентов привлекали внимание Бреслера дипломанты Е. М. Саминский (1954), Э. Н. Казбеков (1955), М. И. Мошевицкий (окончил в 1953 году учебу на кафедре физики диэлектриков ЛПИ и после двух лет работы на заводе «Светлана» поступил в 1955 году в аспирантуру ВНИИСК, где защитил диссертацию в 1959 году), С. В. Кириллов (1960), А. Л. Тимковский (1961), В. Н. Фомичев (1962), В. А. Ланцов (1961), Д. А. Перумов (1959), которые принимались в штат группы физической химии в организованный в 1952 году Институт высокомолекулярных соединений АН СССР. Эта группа была преобразована в лабораторию в 1957 году. В это время основными направлениями работы в лаборатории были фундаментальные проблемы физической химии белков и синтетических полимеров.

Так продолжалось до начала 1960-х годов, когда, после возвращения из зарубежной командировки, Бреслер объявил сотрудникам лаборатории о смене полимерной тематики на молекулярную биологию. В течение года он вводил своих сотрудников в совершенно новую для них отрасль науки, читая им курс лекций по молекулярной биологии, включая самые последние на то время достижения передовых зарубежных научных центров. По материалам этих лекций в 1963 году была издана монография «Введение в молекулярную биологию», по которой постигали азы новой науки в СССР все, включая будущих советских академиков.

Пионерами экспериментального освоения молекулярной биологии в лаборатории Бреслера была небольшая группа Е. М. Саминского, которая методом дифференциальной калориметрии впервые в мире измерила энергию водородной связи при денатурации белков*. Первые же работы по механизму биосинтеза белка в группе Саминского были выполнены С. В. Кирилловым при участии Р. А. Граевской**, в которых впервые было выделено ранее гипотетическое промежуточное соединение биосинтеза белка – пептидил-тРНК, причем из натуральной системы синтеза белка. В промежутке между этими публикациями Уолтер Гилберт в 1965 году выделил синтетическую полифенилаланил-тРНК.

В связи с созданием в 1964 году в филиале ФТИ в Гатчине Радиобиологического отдела с 1966 года на кафедре физики изотопов на-

* Высокомолекулярные соединения. 1962. С. 1119–1123.

** Биохимия. 1964. Т. 29. С. 353–362; Biochim. Biophys. Acta. 1966. Т. 123. С. 534.

чинается прием студентов по специализации «биофизика», и с тех пор кафедра физики изотопов становится базовой для филиала ФТИ, преобразованного в 1971 году в Ленинградский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова АН СССР. В конце концов, кафедра физики изотопов ЛПИ с 1974 года под руководством С. Е. Бреслера была преобразована в кафедру биофизики.

В существующих на сегодня схемах биосинтеза белка генетическая информация, закодированная в ДНК в виде последовательности дезоксирибонуклеотидов (комбинация трех нуклеотидов – кодон из четырех нуклеотидов кодирует одну определенную аминокислоту из 20 разных), сначала копируется специальным белком в виде последовательности рибонуклеотидов. Затем эта РНК, называемая информационной, или матричной, связывается с рибосомами (состоящими из трех разных рибосомных РНК и 50 разных белков), где тРНК выполняет роль переводчика (узнает кодон) и поставляет соответствующую этому кодону аминокислоту в рибосомный центр (А), где рибосомная РНК катализирует образование пептидной связи между этой аминокислотой и растущим полипептидом, связанным с тРНК (пептидил-тРНК), – (Р-центр), поставившей предыдущую аминокислоту в пептидилтрансферазный центр. После образования очередной пептидной связи происходит транслокация – передвижение молекул тРНК и мРНК на три нуклеотида, и становится возможным повторение цикла.

В середине 1960-х годов Саминский с Граевской в ленинградской части лаборатории Бреслера стали изучать термодинамику взаимодействия тРНК с вакантной (без мРНК) рибосомой, т. е. базальное взаимодействие тРНК с рибосомой как наиболее простое и обратимое взаимодействие. Для этого Саминским было разработано количественное изучение взаимодействия тРНК с рибосомами методом равновесного центрифугирования.

С другой стороны, С. В. Кириллов с Ю. П. Семеновым, В. И. Махно, В. Б. Одинцовым в гатчинской Лаборатории молекулярной биологии стали изучать взаимодействие функциональных форм тРНК в присутствии матрицы, но столкнулись с малой активностью рибосом в бесклеточных системах и стали изучать причины инактивации рибосом и совершенствовать методы их выделения. Совместные усилия двух коллективов привели к получению полностью активных рибосом в синтезе белка *in vitro*, доказали наличие третьего выходного сайта для связывания тРНК бактерий, а затем и в рибосомах эукариот, установили распределение сайтов между субчастицами А и Р на малой, а Е-сайт – на большой субчастице.

Все эти данные привели к изменению классической двухсайтовой модели на трехсайтовую. Из-за разногласий в определении свойств и роли третьего сайта в синтезе белка между данными ПИЯФ и данными немецкой группы Ниерхауса безоговорочная смена модели на трехсайтовую заняла около 10 лет. Тем не менее сегодня можно гордиться тем, что третий сайт и все его свойства приняты такими, как они были установлены в ПИЯФ. С самого начала на протяжении полувека в этих исследованиях механизма биосинтеза белка удалось установить полтора десятка фундаментальных фактов, серьезно продвинувших современные представления о разных стадиях этого красивого и необычайно сложного процесса. Исследования эти привлекали пристальное внимание коллег из ОМРБ, других коллективов страны и зарубежных ученых. Разные циклы этих работ неоднократно представлялись на высоких международных научных форумах.

История неординарного открытия в ОМРБ

С. В. Кириллов

Посвящается памяти друга, талантливого ученого

Четыре года назад ушел из жизни выдающийся ученый Даниил Александрович Перумов (18.01.1936–16.08.2012), доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник Лаборатории биополимеров ОМРБ. Называя Д. А. Перумова выдающимся ученым, я несколько не преувеличиваю, т. к. трудно переоценить значение для человечества сделанного им с коллегами и признанного в мире открытия рибопереключателей (riboswitch), осуществляющих новый тип регуляции генов у бактерий и выполняющих регуляторные функции во всех клетках во множестве биологических процессов.

Практически вся научная деятельность Даниила Перумова была посвящена изучению генетической регуляции оперона биосинтеза рибофлавина бактерий *Bacillus subtilis* с использованием химического мутагенеза *in vitro* на выделенной ДНК. Первоначальной целью было получить высокопроизводительный штамм этих бактерий для производства рибофлавина, для чего был расшифрован соответствующий участок генома.

Конечным же результатом этой работы явилось не только открытие нового типа регуляции метаболических генов, но и открытие рибопереключателей. Последнее широко раздвинуло наши представления о функциональных возможностях рибонуклеиновых кислот. Оказалось, что рибопереключатели принимают участие не только в регуляции экспрессии генов, но и множества других важнейших процессов в жизни клетки. Фактически появились новые области исследования с далеко идущими следствиями для современной биологии и медицины.

Основным условием существования любых живых организмов является наличие тонкой, гибкой, согласованно действующей системы регуляции, в которой все элементы тесно связаны друг с другом. В белковом синтезе имеют большое значение не только количественный и качественный состав белков, но и время их синтеза. От этого зависит приспособление микроорганизмов к условиям окружающей питательной среды как биологической необходимости или приспособление сложного многоклеточного организма к физиологическим потребностям при изменении внутренних и внешних условий.

Клетки живых организмов обладают способностью синтезировать огромное количество разнообразных белков. Однако они никогда не синтезируют все белки одновременно. Количество и разнообразие синтезируемых белков, в частности ферментов, определяются степенью их участия в метаболизме. Синтез белка регулируется внешними и внутренними факторами и условиями, которые диктуют клетке синтез такого количества белка и такого набора белков, которые необходимы для выполнения физиологических функций. Все это свидетельствует о весьма сложном, тонком и целесообразном механизме регуляции синтеза белка в клетке.

В 1965 году трем французским ученым, А. Львову, Ф. Жакобу и Ж. Моно, была присуждена Нобелевская премия «За открытия, связанные с генетическим контролем синтеза ферментов и вирусов». Сформулированная и доказанная ими так называемая негативная схема регуляции синтеза белка в бактериях реализуется на уровне транскрипции гена, т. е. синтеза по ДНК информационной, матричной РНК (мРНК), по которой в рибосомах синтезируется этот белок. Существенно важную роль в этой схеме играют белки-репрессоры, которые связываются с генами ненужных клетке в данный момент белков и запрещают синтез соответствующих мРНК. Долгое время считалось, что только белки могут связывать с высокой селективностью и высоким сродством низкомолекулярные метаболиты и благодаря этому осуществлять запуск синтеза необходимых и остановку синтеза ненужных в данный момент клетке ферментов.

В открытом новом типе регуляции активности генов низкомолекулярные промежуточные продукты или конечные метаболиты связываются с высоким сродством прямо с мРНК без участия белков. В литературе открытие рибопереключателей приурочивают к 2002 году и цитируют обычно две последние работы (4-ю и 5-ю) в приведенном ниже списке. Однако справедливее было бы отнести открытие к более раннему периоду и пяти работам в порядке публикации.

1. Бреслер С. Е., Глазунов Е. А., Черник Т. П., Шевченко Т. Н., Перумов Д. А. Исследование оперона биосинтеза рибофлавина у *Bacillus subtilis*. Сообщение V. Флавиномононуклеотид и флавинаденидинуклеотид как эффекторы рибофлавинового оперона // Генетика. 1973. Т. 9. С. 84–91.

2. Миронов В. Н., Перумов Д. А., Краев А. С., Степанов А. И., Скрыбин К. Г. Необычная структура регуляторной области оперона синтеза рибофлавина у *Bacillus subtilis* // Мол. биол. 1990. Т. 24. С. 256–261.

3. *Gelfand M.S., Mironov A.A., Jomantas J., Kozlov Y.I., Perumov D.A.* A Conserved RNA Structure Element Involved in the Regulation of Bacterial Riboflavin Synthesis Genes // *Trends Genet.* 1999. V. 15. P. 439–442.

4. *Mironov A.S., Gusarov I., Rafikov R., Lopez L.E., Shatalin K., Kreneva R.A., Perumov D.A., Nudler E.* Sensing Small Molecules by Nascent RNA: a Mechanism to Control Transcription in Bacteria // *Cell.* 2002. V. 111. P. 747–756.

5. *Winkler W., Navhi A., Dreager R.R.* Thiamine Derivatives Bind Messenger RNAs Directly to Regulate Bacterial Gene Expression // *Nature.* 2002. V. 419. P. 952–956.

Авторы первых трех публикаций – сотрудники ПИЯФ, Института молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта и Государственного института генетики и селекции промышленных микроорганизмов. Четвертая работа выполнена в коллаборации с американскими авторами. Последняя работа опубликована другой группой сотрудников Йельского университета США.

Рибопереключатель – это регуляторный сегмент молекулы мРНК, который, связывая небольшую молекулу метаболита, изменяет уровень синтеза белка, закодированного этой мРНК. Таким образом, мРНК, содержащая рибопереключатель, прямым образом вовлечена в регуляцию своей собственной активности в зависимости от концентрации молекул своего эффектора – продукта, синтезируемого белком, который она кодирует.

Рибопереключатели способны репрессировать или активировать свои собственные гены на транскрипционном и трансляционном уровнях. Рибопереключатель расположен в нетранслируемой части мРНК и состоит из двух частей: аптамера и так называемой экспрессионной платформы. Аптамеры – относительно небольшие (впервые искусственно созданные в 1990 году) нуклеиновые кислоты (минимальный найденный аптамер состоит из 34 нуклеотидов), обладающие специфической пространственной структурой, которая обеспечивает им высокую аффинность, порядка нескольких наномолей, к своему низкомолекулярному метаболиту, что сравнимо с аффинностью малых молекул к белкам.

Открытие рибопереключателей у бактерий показало, что природа создала свои собственные аптамеры с еще более высокой специфичностью. При связывании своего метаболита аптамер изменяет сложную третичную структуру, что приводит к изменению второй части рибопереключателя – экспрессионной платформы, которая, в свою очередь, изменяет (обычно выключает, но некоторые – включают) трансля-

цию кодирующей последовательности мРНК, но может регулировать и транскрипцию этого гена и даже последующих.

Рибопереключатели были открыты в бактериях как внутриклеточные сенсоры производных витаминов (рибофлавина и тиамина). Однако за последние 12 лет было найдено 20 классов рибопереключателей, охватывающих широкий спектр малых метаболитов и ионов, включая коферменты, аминокислоты и нуклеотиды. И каждый год открывают несколько новых рибопереключателей.

Со времени открытия рибопереключателей (13 лет назад), найденных во всех трех царствах жизни, биохимическими, структурными и генетическими исследованиями были установлены основные общие принципы их функционирования. Функции рибопереключателей в живых организмах оказались значительно шире, чем просто новый широко распространенный тип контроля экспрессии генов. Приведу только несколько примеров. Рибопереключатель:

- а) контролирует терминацию транскрипции;
- б) в мРНК-транскрипте может регулировать транскрипцию следующего за ним гена и даже удаленного гена;
- в) ликвидирует последовательность в мРНК, ответственную за связывание с рибосомой, ингибируя таким образом трансляцию;
- г) может регулировать экспрессию некодирующих РНК и контролировать доступность некоторых белков к нативной РНК (например, Rho-фактора терминации и РНКазы E);
- д) это рибозим, который сам себя расщепляет в присутствии достаточно высокой концентрации собственного метаболита;
- е) изменяет сплайсинг пре-мРНК.

Уже перечисленного достаточно, чтобы признать экстраординарную роль рибопереключателей в изучении транскрипции, трансляции, сплайсинга, катализа, т. е. регуляции наиболее существенных процессов в живых организмах.

Если расшифровку генома человека и других организмов можно с полным правом считать главным достижением науки XX века, то XXI столетие будет, несомненно, посвящено изучению роли РНК в регуляции и реализации генетической информации.

Только 1,5 % генома человека кодируют структурные гены белков. Остальные 98,5 % ДНК (называемой ранее «мусорной») кодируют малые, короткие и длинные, неструктурные РНК, регулирующие большинство событий в живой клетке. Именно они так или иначе определяют реализацию закодированной в ДНК информации: что, как, когда и в какой последовательности синтезируются и работают конечные про-

дукты. Во многих типах некодирующих РНК именно рибопереключатели обеспечивают регуляторные функции.

После установления пространственной структуры нескольких рибопереключателей и обобщения этих данных оказалось, что типичный и наиболее универсальный по структуре и широко представленный рибопереключатель – это ТΨС-петля (Т-петля, Т-мотив), – который был обнаружен еще в 1974 году при установлении пространственной структуры фенилаланиновой тРНК из дрожжей. Последовательность ТΨС присутствует во всех тРНК. Абсолютная консервативность этой последовательности уже предполагает ее очень важную биологическую функцию. В свободных транспортных РНК своеобразная конфигурация Т-петли стабилизирует L-образную форму молекул тРНК за счет ее взаимодействия с D-петлей.

Но только стабилизацией структуры дело не ограничивается. При взаимодействии тРНК с факторами элонгации и рибосомами в процессе синтеза белка, по-видимому, реализуются свойства Т-петли как рибопереключателя: изменяется структура самой тРНК, и, следовательно, ее взаимодействие с рибосомами и факторами, и обеспечивается движение тРНК в ходе процесса синтеза. Сама деацелированная тРНК является эффектором рибопереключателя T-box, составленного из двух Т-петель. Накопление деацелированной тРНК в клетке приводит к ее связыванию с T-box областью мРНК и стимулирует синтез аминоацил-тРНК-синтетаз и обеспечивает строгий сбалансированный контроль синтеза рибосомных белков и рибосомных РНК в клетке. Более того, Т-мотивы были найдены в целом ряде некодирующих РНК, включая трансфер-мРНК, рибонуклеазу Р и целом ряде рибопереключателей, регулирующих активность генов. Недавно найдены девять Т-петель в рибосомных 16S и 23S РНК термофилов и других бактерий.

Укладка длинных рибосомных РНК в компактную форму рибосомы обязана вторичным и третичным взаимодействиям нуклеотидов, обеспечивающих разные повороты (U-turn motifs, bulged G-motifs), изломы (kink-turn motif) и другие необычные компактные конфигурации нуклеотидной цепи, обеспечивающие третичные взаимодействия удаленных областей РНК, которые дополнительно стабилизируются взаимодействиями с рибосомными белками.

Между структурами всех этих мотивов есть много общего. Некоторые обеспечивают стабильность формы рибосомных субчастиц, а другие – необходимые для выполнения функций динамические изменения структуры областей, вовлеченных во взаимодействия с факторами элон-

гации, инициирования и терминации, т. е. на всех этапах синтеза белка в рибосоме.

Весьма вероятно, что именно рибопереключателю (например, T-мотивы, обнаруженные в структуре рибосомных РНК) играют главную роль в реализации наблюдаемых значительных динамических макромолекулярных преобразований в ходе синтеза белка в рибосомах и представляют заманчивую новую цель для создания нового класса антибиотиков, ингибиторов синтеза белка. В последние годы уже ведется интенсивное производство искусственных рибопереключателю как нового класса антибактериальных агентов, поскольку рибопереключателю являются эффективным методом контроля экспрессии генома в организмах.

Оказалось, что мишенью некоторых антибактериальных препаратов, открытых десятилетия назад (по крайней мере, частично) являются рибопереключателю. Установлено, например, что мишенью одного из известных антибиотиков пиритиамина является тиаминпирофосфат – рибопереключателю (TPP riboswitch). Кроме того, применение искусственных рибопереключателю является перспективным направлением и для исправления генетических недостатков у живых организмов.

Таким образом, открытие рибопереключателю расширило наши знания о возможностях РНК. Рибопереключателю продемонстрировали, что природные РНК могут связывать специфически маленькие молекулы, что считалось ранее прерогативой только белков и искусственно сконструированных аптамеров.

Наличие рибопереключателю во всех царствах жизни доказывает гипотезу о возникновении жизни как мира РНК, в котором позже появились белки.

Действительно, РНК может делать все: кодировать, хранить и передавать по наследству генетическую информацию, регулировать ее экспрессию, переводить ее из нуклеотидного кода в аминокислотный, катализировать химические реакции от простых до самых сложноорганизованных, каким является синтез пептидной связи в рибосоме.

Можно сказать, что в процессе эволюции РНК делегировала синтезированным ею белкам катализ простых химических реакций, поручила хранение и передачу по наследству большей части информации дезоксирибонуклеиновой кислоте ДНК (дезоксирибонуклеотиды, из которых она состоит, синтезируются из рибонуклеотидов), сохранив за собой наиболее важные контрольные регуляторные функции основных процессов в живой клетке, не утратив в то же время и все делегированные белкам и ДНК способности.

Древний мир живого был чисто РНКовым, но сегодня можно сказать, что он таковым и остался, т. к. РНК в нем доминирует.

К глубочайшему сожалению, преждевременная смерть прервала жизнь Даниила Александровича Перумова в расцвете его творческих сил. Работы его не забыты, имеют высокий индекс цитирования, а сделанные им с сотрудниками открытия с каждым годом вовлекают в исследования новые обширные области молекулярной биологии и медицины.

Сведения об авторах

Генрих Андреевич Багиян – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник.

Дмитрий Михайлович Байтин – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник.

Василий Иванович Безносюк – заместитель начальника отдела по науке Радиевого института им. В. Г. Хлопина.

Сергей Алексеевич Булат – кандидат биологических наук, заведующий Лабораторией криоастробиологии.

Валерий Николаевич Вербенко – доктор биологических наук, заведующий Лабораторией молекулярной генетики.

Рудольф Павлович Девятериков – главный инженер ОМРБ.

Илья Артемьевич Захаров-Гезехус – член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор, заведующий Лабораторией радиационной генетики в 1964–1987 гг.

Фарид Миникасимович Ибатуллин – кандидат химических наук, заведующий Лабораторией биоорганической и медицинской химии.

Владимир Васильевич Исаев-Иванов – кандидат физико-математических наук, заведующий Лабораторией биофизики макромолекул.

Станислав Викторович Кириллов – доктор биологических наук.

Татьяна Николаевна Кожина – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник.

Андрей Леонидович Коневега – кандидат физико-математических наук, заведующий Лабораторией биосинтеза белка, руководитель Отделения молекулярной и радиационной биофизики.

Владимир Геннадиевич Королев – доктор биологических наук, заведующий Лабораторией генетики эукариот.

Анна Алексеевна Кульминская – кандидат химических наук, заведующая Лабораторией энзимологии.

Сергей Борисович Ланда – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник.

Станислав Николаевич Нарыжный – доктор биологических наук, заведующий Лабораторией протеомики.

Леонид Алексеевич Носкин – доктор биологических наук, профессор, заведующий Лабораторией медицинской биофизики.

Юрий Николаевич Орлов – доктор физико-математических наук, ведущий научный сотрудник.

Софья Николаевна Пчелина – доктор биологических наук, заведующая Лабораторией молекулярной генетики человека.

Александр Павлович Роганов – заведующий научно-техническим отделом.

Светлана Владимировна Саранцева – доктор биологических наук, заместитель директора Института по научной работе, заведующая Лабораторией экспериментальной и прикладной генетики.

Николай Владимирович Сорока – старший научный сотрудник.

Андрей Леонидович Тимковский – доктор физико-математических наук, профессор, заведующий Лабораторией биополимеров.

Михаил Валентинович Филатов – кандидат биологических наук, заведующий Лабораторией клеточной биологии.

Содержание

<i>Предисловие</i>	3
50 лет Отделению молекулярной и радиационной биофизики	5

Часть 1. Кануны и Учителя

Семен Ефимович Бреслер.	
<i>Г. А. Багиян</i>	13
Михаил Ефимович Лобашев.	
<i>И. А. Захаров-Гезехус</i>	36

Часть 2. Научные подразделения ОМРБ

Лаборатория генетики эукариот.	
<i>И. А. Захаров-Гезехус, Т. Н. Кожина, В. Г. Королев</i>	39
Лаборатория биофизики макромолекул.	
<i>В. В. Исаев-Иванов</i>	48
Лаборатория клеточной биологии.	
<i>М. В. Филатов</i>	77
Лаборатория молекулярной генетики.	
<i>В. Н. Вербенко</i>	93
Лаборатория молекулярной генетики человека.	
<i>С. Н. Пчелина, Г. А. Багиян</i>	102
Лаборатория биополимеров.	
<i>А. Л. Тимковский</i>	107
Лаборатория экспериментальной и прикладной генетики.	
<i>С. В. Саранцева</i>	114
Лаборатория энзимологии.	
<i>А. А. Кульминская</i>	117
От Лаборатории биосинтеза ДНК к Лаборатории протеомики.	
<i>С. Н. Нарыжный</i>	120

Лаборатория биоорганической и медицинской химии. <i>Ф. М. Ибатуллин</i>	125
Лаборатория криоастробиологии. <i>С. А. Булат</i>	127
Лаборатория медицинской биофизики. <i>Л. А. Носкин</i>	134
К истории создания Лаборатории биосинтеза белка. <i>А. Л. Коневега</i>	139

Часть 3. Научно-технические подразделения ОМРБ

Научно-технический отдел биоэлектроники. <i>А. П. Роганов</i>	143
Опытное производство. <i>Р. П. Девятериков</i>	145

Часть 4. Прикладные достижения ОМРБ

Введение	147
Синтез меченых S ³⁵ -нуклеозид-5'-тиотрифосфатов. <i>Н. В. Сорока</i>	149
Синтез йодфолатов, меченных радиоизотопами йода. <i>Н. В. Сорока, В. И. Безносюк</i>	152
Разработка метода лазерной корреляционной спектроскопии. <i>С. Б. Ланда</i>	156
Интеграция науки и образования. <i>Ю. Н. Орлов</i>	159
Зимние биологические школы ПИЯФ. <i>Г. А. Багиян</i>	162
Частный взгляд на историю ОМРБ. <i>Г. А. Багиян</i>	164

Часть 5. Фундаментальные достижения ОМРБ

Гатчинский вклад в механизмы биосинтеза белка. <i>С. В. Кириллов</i>	170
История неординарного открытия в ОМРБ. <i>С. В. Кириллов</i>	212
Сведения об авторах	219

Страницы истории
Выпуск 2
Биологическая наука в ПИЯФ

Редакторы: *А. М. Архипова, Е. Ю. Орбец, Н. В. Силюнская*
Техническое редактирование, обложка *Т. А. Парфеева*
Компьютерная обработка и верстка: *Е. В. Веселовская, А. Б. Кудрявцева*

Отпечатано в типографии
ФГБУ «ПИЯФ» НИЦ «Курчатовский институт»

188300, Гатчина Ленинградской обл., мкр. Орлова роща, д. 1
Зак. 83, тир. 250, уч.-изд. л. 12,5; 09.02.2017 г.
Формат 60 × 90 1/16, печать офсетная

Выпуски серии «Страницы истории»

Выпуск 1. Реактор ВВР-М и нейтронные исследования.
2016. 240 с., 139 ил. ISBN 978-5-86763-378-3