

# НАУКА В мире

Обзор журналов  
Nature, PNAS, Science

Номер 14 (1)  
23 декабря 2014 г.

Глеб Сухоруков:  
«В идеале, управлять наночастицами  
надо так, как управляют телевизором  
с помощью пульта»

стр. 6

Микроволновой разогрев металлических  
наночастиц позволяет функционализировать  
графен и оптимизировать синтез  
углеродных наноструктур.

Комментарий Валентина Ананикова

стр. 9

Разработан датчик  
вибраций по аналогии  
с механочувствительным  
органом паука

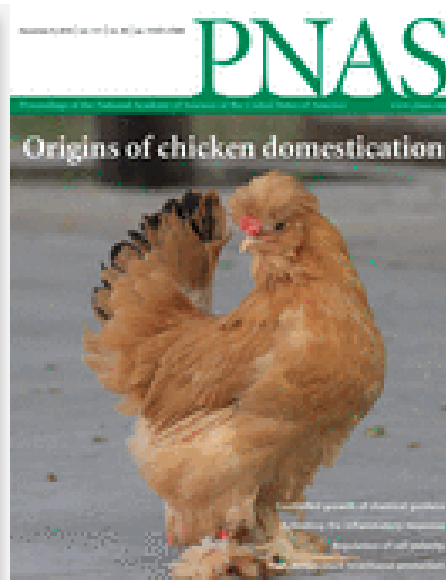
стр. 56

Одомашнивание кур  
предположительно  
произошло в Северном  
Китае 10 тысяч лет  
назад

стр. 42

Видовое разнообразие  
пчел в Англии снижается  
из-за интенсивной  
хозяйственной  
деятельности

стр. 55



**ЖУРНАЛ «НАУКА В МИРЕ» № 14 (1)**

23 декабря 2014 года  
Издается еженедельно

**УЧРЕДИТЕЛЬ**

Общероссийская общественная организация  
«Российская ассоциация содействия науке»

Свидетельство о регистрации СМИ:  
Эл № ФС77-59570 от 10 октября 2014 года

**ПРЕДСЕДАТЕЛЬ ПРЕЗИДИУМА RASCH**

**Евгений Павлович ВЕЛИХОВ,**  
академик РАН, Почетный секретарь  
Общественной палаты РФ,  
президент НИЦ «Курчатовский институт»

**ПЛЕНУМ RASCH**

**Виктор Лазаревич АКСЕНОВ,**  
директор Петербургского института  
ядерной физики им. Б.П. Константинова

**Жорес Иванович АЛФЕРОВ,**  
академик РАН, вице-президент РАН,  
член Комитета Государственной Думы  
по науке и наукоемким технологиям

**Лев Яковлевич БОРКИН,**  
почетный председатель Правления  
Санкт-Петербургского союза ученых

**Максим Валерьевич ВИКТОРОВ,**  
первый заместитель председателя  
Президиума Российской ассоциации  
содействия науке, председатель  
Совета Фонда инвестиционных программ

**Олег Васильевич ИНШАКОВ,**  
президент Волгоградского государственного  
университета

**Александр Николаевич КАНЬШИН,**  
председатель Совета Национальной ассоциации  
объединений офицеров запаса  
Вооруженных Сил РФ

**Михаил Валентинович КОВАЛЬЧУК,**  
член-корреспондент РАН, директор  
НИЦ «Курчатовский институт»

**Николай Александрович КОЛЧАНОВ,**  
академик РАН, директор Института  
цитологии и генетики СО РАН

**Юрий Николаевич КУЛЬЧИН,**  
академик РАН, директор Института автоматики  
и процессов управления ДВО РАН

**Андрей Викторович ЛОГИНОВ,**  
заместитель руководителя Аппарата  
Правительства РФ

**Георгий Владимирович МАЙЕР,**  
Президент Национального исследовательского  
Томского государственного университета,  
член Совета Российского союза ректоров

**Вера Александровна МЫСИНА,**  
старший научный сотрудник  
Института общей генетики РАН

**Валерий Александрович ТИШКОВ,**  
академик РАН, директор Института этнологии  
и антропологии им. Н.Н. Миклухо-Маклая РАН

**Валерий Александрович ЧЕРЕШНЕВ,**  
академик РАН, академик РАН,  
председатель Комитета Государственной Думы  
по науке и наукоемким технологиям,  
член Консультативного совета Фонда «Сколково»

**ИЗДАТЕЛЬ ЖУРНАЛА**

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

**Генеральный директор**

Сергей Валерьевич КАЛМЫКОВ,  
руководитель Комиссии по информационной  
политике RASCH

**Административный директор**

Светлана Александровна ХОЗИНСКАЯ

**РЕДАКЦИЯ****Главный редактор**

Денис Сергеевич АНДРЕЮК,  
руководитель Аналитической группы RASCH

**Заместитель главного редактора**

Евгения Борисовна МАХИЯНОВА

**Старший научный редактор реферативной части:**

Александр Станиславович ЕЛСАКОВ

**Редакторы-референты**

Братцева А.Л., Дедков Г.В., Дотолева К.С.,  
Жармухамедов С.К., Корепанов А.П.,  
Кутукова Е.А., Лим Д.А., Моисеев А.В.,  
Мохосоев И.М., Образцов А.Б., Ольховик А.Ю.,  
Пихновский Д.С., Прудских Н.С., Раков В.Н.,  
Сварник О.Е., Сидоров Р.П., Стрекопытов В.В.,  
Шустикова Л.А., Якименко А.В.

**Выпускающий редактор**

Александр Станиславович ЕЛСАКОВ

**Адрес редакции (для переписки):**

105066, г. Москва, ул. Спартаковская, 11-1.  
e-mail: naukavmire@allrussia.ru  
сайт RASCH: russian-science.com

Информационная продукция для детей,  
достигших возраста двенадцати лет.

© ООО «ВР Медиа Групп». Все права защищены.  
Любое использование материалов допускается  
только с письменного разрешения редакции.

# Читайте в этом номере:

## Информационное поле

### 4 От редакции

Самое интересное  
в рефератах

Топ-10 статей текущего номера

### 5 Новости

#### Влажный Марс

Российские ученые  
проследили  
за движением водяного  
пара в разреженной  
атмосфере Красной  
планеты

#### Территория генома

За сходством поведения  
пчел, мышей и рыб лежат  
сходные генетические  
механизмы

### 6 От первого лица

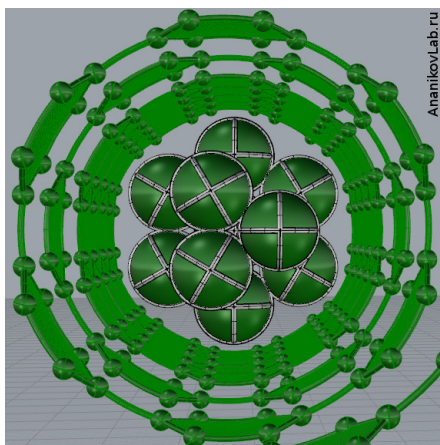
#### Средства доставки

С помощью специальных  
покрытий вводимые  
в организм вещества  
становятся «умными»

### 9 Комментарий эксперта

#### Графеновый оргсинтез

Российские ученые  
обосновали новый метод  
каталитического оргсинтеза  
с использованием графена  
и микроволнового разогрева  
наночастиц



## Nature · PNAS · Science: рефераты статей

### 12 Естественные и точные науки

### 27 Медицинские науки и общественное здравоохранение

### 42 Гуманитарные науки

### 43 Техника и технологии

### 51 Социальные науки

### 55 Сельскохозяй- ственные науки

### 56 Междисципли- нарные исследования

# Самое интересное в рефератах

## Топ-10 статей текущего номера

- 1. Шелковая электроника.** Магниевою металлическую антенну и резистор из оксида магния упаковали в полимерный чехол из белков шелка. Полученную пластинку имплантировали мышам, которых потом заражали стафилококком для имитации раневой инфекции. Вся конструкция разогревалась дистанционно радиоизлучением и стафилококки в ране гибли. Через неделю шелк рассасывался, а магневая «электроника» растворялась. *Реферат на с. 44.*
- 2. Диабет и сосуды.** С возрастом нарушается гомеостаз глюкозы в крови, в некоторых случаях до развития сахарного диабета 2-го типа. В работе пересадили панкреатические островки (клетки, отвечающие за выработку инсулина) от очень старой мыши в ткани молодой мыши, больной диабетом. Островки заработали и молодая мышь выздоровела. Оказывается, с возрастом сами клетки панкреатических островков хуже не становятся, а вот питающие их сосуды начинают деградировать, и в этом главная причина развития диабета в пожилом возрасте. *С. 34.*
- 3. Чувствительный, как паук.** Предложена технология создания механических сенсоров, устроенных по аналогии с механосенсорным органом пауков. Принцип действия основан на изменении щели между наноразмерными пластинками, помещенными на растяжимую полимерную подложку. Сенсор позволяет чувствовать вибрации, в том числе звуковые, и может быть встроен в кожу человека. *С. 56.*
- 4. Куриная история.** В работе проанализировали гены митохондриальных ДНК из наиболее древних из известных на сегодня костей птиц рода *Gallus* (сем. курообразные), а также гены их современных диких родственников. Результаты говорят о том, что первые куры были одомашнены людьми в Северном Китае в нижнем течении реки Хуанхэ и произошло это 7–12 тысяч лет назад. *С. 42.*
- 5. Спирт в кипятке.** Представитель архей *Pyrococcus furiosus* живет при 100 °С. Встраивание генов термококков, кодирующих ферменты спиртового брожения, позволило получить штаммы, синтезирующие спирт при температуре около 70 °С. С технологической точки зрения это очень удобно: не нужно защищаться от других микробов, а спирт можно дистиллировать непосредственно в процессе получения. *С. 47.*
- 6. Сито для протонов.** Гексагональные кристаллы толщиной в один атом (двухмерные кристаллы) графена и нитрида бора оказались высокопроницаемыми для протонов. Поскольку оба материала доступны на коммерческом рынке, их протонная проницаемость может быть использована в широком спектре технических устройств. *С. 49.*
- 7. Грамотные видят больше.** Обработка зрительной информации — это основа обработки информации вообще. В работе доказали, что те, кто в детстве научился читать, обрабатывают визуальную информацию лучше неграмотных и тех, кто научился читать в зрелом возрасте. *С. 51.*
- 8. Поговорить, чтобы понять.** С людьми разговаривали о проблеме однополых браков и фиксировали отношение собеседников к этой проблеме — непосредственно после разговора и через временные промежутки. Оказалось, даже 20-минутной беседы достаточно, чтобы люди становились более толерантны. А если беседу проводил гей, то эффект сохранялся и через 9 месяцев, причем опрашиваемые даже начинали убеждать в необходимости быть толерантным своих друзей и знакомых. *С. 53.*
- 9. Когда исчезают пчелы.** В двух работах исследовали видовое разнообразие жалоносных насекомых в связи с хозяйственной деятельностью человека. В Голландии пчел становится меньше из-за исчезновения определенных растений, а в Англии даже удалось связать скорость исчезновения видов с проведением сельскохозяйственной реформы после Первой мировой войны. *С. 21, 55.*
- 10. Стабильная основа.** Высокорастворяющая электронная микроскопия позволяет реконструировать трехмерную структуру белковых молекул в их естественных конфигурациях. В работе предложили особую конструкцию подложки из золота, которая обеспечивает большую стабильность образца и более высокое разрешение метода в целом. *С. 44.*



## Влажный Марс

Российские ученые проследили за движением водяного пара в разреженной атмосфере Красной планеты.

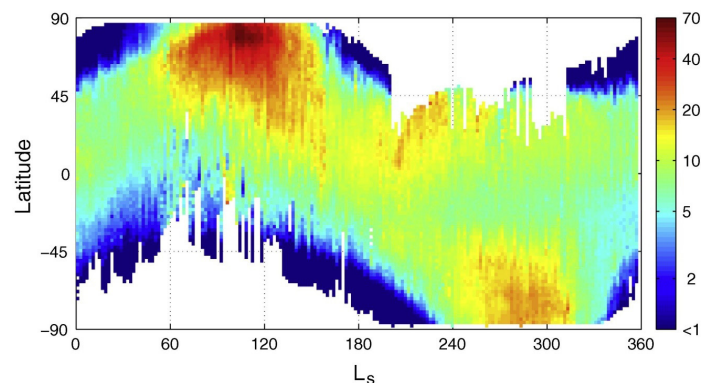
Около десяти лет на борту европейского зонда Mars Express работает инфракрасный спектрометр SPICAM, разработанный совместно российскими и французскими специалистами. Огромный массив наблюдений, собранный за это время, был недавно проанализирован сотрудниками Института космических исследований (ИКИ) РАН и Московского физико-технического института (МФТИ) Александром Трохимовским, Анной Федоровой, Олегом Кораблевым и Александром Родиным совместно с коллегами из Франции и США. Результаты этой работы будут опубликованы в журнале *Icarus*.

Продолжительность марсианского года почти вдвое превышает год на Земле, так что наблюдения SPICAM охватили период в пять местных лет. Жидкой воды на холодной и безвоздушной планете нет, однако в полярных шапках остается достаточно льда, который при смене сезонов частично испаряется и конденсируется вновь. Годичные колебания содержания водяного пара в атмосфере Марса были отслежены в ходе эксперимента SPICAM.

Если условно представить, что весь водяной пар Марса сконденсируется и покроет планету слоем жидкости, толщина его составит не более 10–20 мкм. Однако наблюдения показали, что в северных широтах в летний период эта цифра поднимается до 60 и даже 70 мкм, хотя в южном полушарии остается на уровне 20 мкм. Кроме того, авторы работы заметили, что в ходе пылевой бури на 28 марсианском

году (одно из принятых в науке летоисчислений для Марса начинается с местного солнцестояния 11 апреля 1955 г. по земному календарю) содержание водяного пара в атмосфере резко падало — на 5–10 мкм.

Работа стала одним из редких исследований гидрологического цикла, разворачивающегося за пределами Земли — на соседней планете, где, возможно, некогда существовала жизнь. Во всяком случае, наличие этого климатического механизма несколько увеличивает шансы действительно обнаружить ее следы.



Широтное распределение влаги в атмосфере Марса в течение местного года. Иллюстрация ИКИ РАН

Публикация: Mars' water vapor mapping by the SPICAM IR spectrometer: Five martian years of observations. *Icarus*. 2014. В печати.

## Территория генома

За сходством поведения пчел, мышей и рыб лежат сходные генетические механизмы.

Благодаря конвергентной эволюции и/или консерватизму некоторые сложные признаки оказываются близкими даже у далеких видов живых организмов. В некоторых случаях — как например при эмбриональном развитии — за этим явно стоит глубокая близость молекулярно-генетических механизмов, сохраняющихся неизменными даже в ходе миллионов лет независимой эволюции. В других — как при схожем территориальном поведении разных, часто несхожих видов — эта общая основа далеко не очевидна.

Этой интересной проблеме посвящена одна из публикаций, вышедших в свежем номере журнала *PNAS*. Американские биологи отчитываются о результатах генетического исследования трех филогенетически далеких друг от друга видов животных, проявляющих удивительное сходство территориального поведения: домового мыши (*Mus musculus*), трехглазой корюшки (*Gasterosteus aculeatus*) и медоносной пчелы (*Apis mellifera*).

Авторам удалось показать, что реакция, вызванная вторжением на территорию чужака, у всех трех видов связана со схожей функциональной активностью нейронов. Она включает гормональную стимуляцию нервной системы, нейрогенез, организацию хромосом и изменения энергетического метаболизма. Ученые также обнаружили у этих видов несколько гомологичных факторов транскрипции, меняющих активность соответствующих генов в ответ на появление чужой особи.

Все это позволяет предполагать, что даже столь сложные и высокоорганизованные фенотипические структуры, близкие у разных организмов, могут базироваться на весьма близких генетических механизмах, включая как сходные каскады транскрипции, так и высоко консервативные гены. Возможно, в ходе независимого развития далеко разошедшихся друг от друга видов такие генетические «наборы инструментов» служат основой для эволюции и адаптации различных поведенческих механизмов.

Публикация: Neuromolecular responses to social challenge: Common mechanisms across mouse, stickleback fish, and honey bee. Clare Rittschof, et al. *PNAS*. 2014. Vol. 111. No 50. P. 17929–1793.

# Средства доставки

## С помощью специальных покрытий вводимые в организм вещества становятся «умными»

Одно из наиболее перспективных направлений в разработке новых форм лекарственных препаратов сегодня связано с так называемыми технологиями *drug delivery* – прицельной доставки лекарств к месту их действия. Научный руководитель лаборатории «Дистанционно управляемые системы для тераностики» НИУ Саратовский государственный университет **Глеб Борисович Сухоруков** предлагает взглянуть на проблему более широко: доставка наноразмерных капсул с полезной начинкой должна быть не только прицельной, но и управляемой.

Историю создания капсул можно вести с 1990-х гг. Именно в тот период у меня завязались контакты с немецким учёным, профессором Гельмутом Мёвальдом (Helmuth Möhwald), работавшим в то время в университете Майнца в институте физической химии, и впоследствии являвшимся директором института Макса Планка в Потсдаме. Начиная с 1993 г., еще будучи аспирантом, я периодически приезжал к нему, выполняя совместные работы. В 1996 г. профессор перевел меня в Потсдам. Я работал примерно 3 месяца в Германии и 3 в Москве.

Постепенно стало ясно, что то время, которое я провожу в Москве, потрачено фактически впустую, потому что реально экспериментальная база страдала, и выполнять исследования на высоком уровне стало практически невозможно. Мне был предложен двухгодичный контракт в Германии и я стал сотрудником Института коллоидных систем и граничных поверхностей имени Макса Планка в Потсдаме. Он более других подходил мне по

тематике и имел лучшее оснащение, чем университеты Германии в общем. Именно здесь я продолжил заниматься коллоидной химией и химией полимеров, а конкретнее — разрабатывать и совершенствовать свой новый метод микрокапсулирования, — метод, который позволил помещать широкий круг веществ в микрокапсулы с заданными размерами и свойствами оболочки.

«Если это лекарственное вещество, то важно, чтобы оно высвобождалось контролируемо.

Мы научились варьировать размер капсул в пределах от десятков нанометров до десятков микрон и варьировать такие свойства капсул, как стабильность оболочки, скорость выхода вещества. Если это лекарственное вещество, то важно, чтобы оно высвобождалось контролируемо. С помощью нашей технологии мы смогли в широком временном диапазоне дози-

ровать выход биологически активных веществ. Более того, с помощью оболочки мы задаем конкретные участки для связывания наших капсул. То есть они доходят до определенных мест и именно там специфически связываются, начинают высвобождать содержащееся в них вещество.

Такие широкие возможности сразу расширяют их практическую зону использования. Кроме медицины, эти разработки можно применять в сельском хозяйстве, косметической промышленности и различных инженерных и биоинженерных устройствах. Есть много сугубо технических возможностей применения, никак не связанных с биологией и медициной. Одно из главных достоинств этого метода как раз и состоит в универсальности.

За последнее время в мире было разработано несколько различных технологий, позволяющих с разной степенью эффективности осуществлять упаковку и последующее высвобождение лекарственного препарата. На первое место в разработках можно поставить США, высока активность в Японии, Сингапуре и Китае. Из стран Европейского союза особо нужно отметить Германию и Швейцарию, чуть меньше — Великобританию. Но каждая из технологий имеет свои ограничения ввиду специфики химических процессов.

Гораздо скромнее успехи в контролируемой направленной доставке и высвобождения определенных количеств активного вещества в заданное время. В этом плане технология получения нано/микрокапсул (далее просто «капсул») и упаковки (инкапсулирования) в них лекарственного препарата, разработанная под моим руководством, находится в наиболее выгодной позиции.

Она основана на многослойной последовательной абсорбции противоположно заряженных субстанций, главным образом полиэлектролитов (ПЭ), на поверхности коллоидных частиц. Такие слои (каждый толщиной в 1–2 нм) могут быть созданы из искусственных или натуральных ПЭ, полипептидов, ДНК или РНК, жиров или мультивалентных красителей. Включение активного вещества в структуру осуществляется или на стадии формирования исходной коллоидной частицы или на стадии добавления слоев к ее поверхности. При этом размер капсулы можно с высокой точностью контролировать в диапазоне от 50 нанометров до десятков микрон. Внешняя оболочка капсулы разрабатывается исходя из свойств и задач ее активного содержимого.

« Включение активного вещества происходит или на стадии формирования исходной коллоидной частицы или на стадии добавления слоев к ее поверхности.

При одном сценарии обеспечивается медленная диффузия содержимого когда капсула попадает в среду с определённой кислотностью, температурой, или метаболитами (например, сахарами). При другом — содержимое остается в капсуле до времени ее доставки к цели и высвобождается одновременно внешним физическим воздействием. Капсулы из биodeградируемых полимеров типа полипептидов или полисахаридов будут постепенно разлагаться внутри клетки или внутри кровеносного сосуда, высвобождая со-

держимое за время, определяемое толщиной их оболочки. В случае необходимости, увеличение активной жизни нанокапсулы в кровотоке может быть достигнуто методом «пэггилирования» (обволакиванием капсулы полиэтиленгликолем — ПЭГом).

В настоящее время мы развиваем несколько проектов под названием «Дистанционное управление системами для доставки лекарств и сенсинга», где терапия и диагностика объединились и называются одним словом — «тераностика». Она проводится в живых системах вообще и в человеке в частности. Направленной доставкой лекарств занимаются сотни лабораторий, и все пытаются сделать это так, как делает природа. Мы же идем другим путем: стараемся привлечь физику, чтобы она помогала нам видеть, куда мы помещаем объекты, дистанционно их вскрывать и высвобождать лекарства; чтобы наша капсула могла сделать работу, к примеру забрать токсичные вещества, а затем раствориться или выйти из организма. Но все это она должна сделать именно с помощью инструментов дистанционного управления: электромагнитного излучения различного диапазона, радиочастотного, рентгеновского излучений, магнитного поля или ультразвука.

В идеале, управлять наночастицами надо так, как управляют телевизором с помощью пульта. Для этого необходимо, во-первых, создать носители микронного или субмикронного размера (меньше клетки). Во-вторых, сделать их видимыми. В-третьих, они должны содержать нужные вещества внутри. Мы создаем капсулы на базе полимеров и их комплексов с наночастицами, используя синтез на поверхности коллоидных частиц с помощью своеобразной матрицы — темплаты.

Но есть и другие способы — эмульсии, к примеру. Такие частицы могут быть в виде полых шариков, как в нашем случае, или в форме диска. Мы занимаемся физической и химической сборкой полимеров — создаем частичку, в которой содержится нужное нам вещество, и сверху склеиваем оболочку с внедрением наночастиц. Эта оболочка защищает внутреннее содержимое

капсулы, позволяя ему высвобождаться в определенное время или быть восприимчивым к чему-то: реагировать на температуру, кислотность или, как в нашем проекте, на магнитное поле, электромагнитное излучение, ультразвук.

Мы уже создаем такие частицы. Многие на этом уровне сделали и опубликовали, проведен целый цикл работ, в том числе — доставку вещества на клеточном уровне. Собственно, наш проект направлен не только на то, чтобы сделать эти капсулы более чувствительными, но, в первую очередь, на то, чтобы попробовать ими управлять в живом организме.

« В идеале, управлять наночастицами надо так, как управляют телевизором с помощью пульта.

Мы знаем, что введение капсул в организм не приводит к катастрофическим последствиям, но это воздействие необходимо проверить. Можно было бы говорить об успехе, если бы в конце 2016 г. мы смогли продемонстрировать следующее: ввести необходимое вещество в виде капсул и дистанционно пролечить болезнь у животных, к примеру мышей.

Параллельно мы ищем и болезни, которые можно излечить подобными методами. В идеале, мы ожидаем от докторов постановки задач: «Нам нужно доставить лекарства, которыми можно вылечить такую-то болезнь».

По некоторым вопросам работа с медиками в этом направлении уже ведется. У нас есть технология, но мы должны получить задачи, которые она сможет решить. К примеру, человек находится в предынфарктном состоянии. Если это своевременно диагностировать с помощью специальных наносенсоров, человек вовремя примет таблетку, что существенно снизит риск инфаркта. Это на самом деле спасет жизни.

Многие врачи готовы уже сейчас с нами сотрудничать и даже используют наши препараты. Другие говорят,

«Капсулы с чувствительными элементами будут способны сообщать о параметрах их окружения посредством физико-химических сигналов.

что нам еще нужно довольно много работать, чтобы попробовать лечить болезни, потому что неизвестны последствия, долговременные эффекты. Токсичность наших объектов еще не во всех случаях определена, и над этим надо работать.

У нас уже есть заказы от частных компаний. То, что требуется компаниям, для нас как ученых — упрощенный вариант. Им пока не нужно, к примеру, дистанционное управление везикулами внутри живого организма. Не вдаваясь в детали, опишу одну из реальных проблем. Есть вещество, из которого изготавливают импланты. У человека может начаться отторже-

ние, а врач может не узнать об этом вовремя. Увидев воспаление, он даст лекарство, но оно проявит себя через недели. И что делать, если у человека распухает нога — проводить еще одну операцию? Лекарство может быть введено заранее, и если начинается воспалительный процесс, внешним, дистанционным воздействием лекарство выпускают и лечат организм без повторной операции. Это то, что требуется уже сейчас.

Параллельно с медицинской практикой частью мы ведем активные фундаментальные исследования, создавая новую концепцию. Она нуждается в оптимизации и проверке на живых организмах. Это будет, несомненно, новое слово в науке.

Одним из основных научных направлений является разработка с помощью нанотехнологий интерактивных управляемых систем-носителей биологически важных веществ для внедрения в медицинскую практику. Такие системы будут способны доставлять по кровотоку биологически активные мо-

лекулы строго к определенным участкам организма и высвобождать их в заданное время в определенных концентрациях. Капсулы с чувствительными элементами также будут способны сообщать о параметрах их окружения посредством физико-химических сигналов. Будут разрабатываться и микроразмерные сенсорные элементы, основанные на капсулировании ферментов и чувствительных молекул для диагностики.

Среди более фундаментальных направлений можно назвать исследование формирования в клетке экзосом и их содержимого посредством использования капсул, внедренных в клетку.

Мы ожидаем, что наши результаты в области оригинальной технологии капсулирования, доставки и контролируемого высвобождения найдут свое широкое практическое применение, поскольку планируем «упаковывать» таким образом антибиотики, обезболивающие препараты, а также косметические ингредиенты и пищевые добавки.

#### СПРАВКА «НАУКИ В МИРЕ»

Глеб Борисович Сухоруков в 1994 г. защитил кандидатскую диссертацию на физфаке МГУ им. М. В. Ломоносова по специальности «Биофизика». Впервые показал возможности формирования полимерной оболочки на коллоидных микрочастицах методом последовательной адсорбции полиэлектролитов, создания микрокапсул и инкапсуляции различных веществ методом послойной адсорбции. Является автором и соавтором более 200 статей и 12 патентов, общее число цитирований превышает 17000, h-фактор равен 74. Соучредитель трех хайтек-компаний (Германия, Россия, Англия). Выступает рецензентом таких высокоцитируемых международных журналов, как *Nature Materials*, *Angewandte Chemie*, *Advanced Materials*, *Journal of Controlled Release*, *Journal of American Chemical Society*, *Biomacromolecules* и др. Являлся координатором и руководителем большого числа национальных и европейских научных проектов. Входит в десятку самых известных в мире ученых русского происхождения по версии журнала «Forbes» (2011). Руководитель научных групп в Англии, Сингапуре и России (Саратовский государственный университет по программе конкурса «Мегагрант», Политехнический университет Санкт-Петербурга). Научные интересы: физика и биохимия на субмикронном уровне, создание мультифункциональных коллоидных

частиц и капсул, наноструктурированные биоматериалы, разработка дистанционно-управляемых систем доставки микро- и наноструктур. С 2005 по н. в. профессор, руководитель кафедры биоматериалов в Школе инженерии и наук о материалах департамента материалов Университета королевы Марии (Лондон, Великобритания). С 2014 по н. в. — ведущий ученый, научный руководитель лаборатории «Дистанционно управляемые системы для тераностики» НИУ СВУ (Саратов, Россия). С 2013 по н. в. — вице-президент RASA, президент европейской секции RASA. С 2007 по 2011 приглашенный профессор Института исследования материалов и инженерии A STAR (Сингапур). 2001–2005 гг. — руководитель научной группы «Мультифункциональных наноструктурированных полимерных микрокапсул» в Институте коллоидов и границ раздела фаз Макса Планка (Гольм — Потсдам, Германия). 2000 г. — соучредитель научно-производственной фирмы «Capsulation NanoScience» AG (Берлин, Германия). 1997–2000 гг. — научный сотрудник департамента границ раздела фаз Института коллоидов и границ раздела фаз Макса Планка (Гольм — Потсдам, Германия). 1994–1997 гг. — научный сотрудник Института кристаллографии имени А. В. Шубникова РАН (Москва, Россия). 1994–1996 гг. — приглашенный исследователь в Институте физической химии университета Майнца (Майнц, Германия).



# Графеновый оргсинтез

## Российские ученые обосновали новый метод каталитического оргсинтеза с использованием графена и микроволнового разогрева наночастиц

Графен стал знаменит благодаря своим уникальным физическим свойствам. Теперь им заинтересовались и химики. В лаборатории член-корреспондента РАН *Валентина Павловича Ананикова* в Институте органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН были обнаружены трансформации графенового слоя углерода, которые протекают под действием наночастиц металлов, нагретых микроволновым излучением.

Нагретые под действием микроволнового излучения наночастицы металлов приводят к активному структурированию поверхности углерода: происходит образование каналов как на поверхности, так и внутри объема углеродной подложки; активный рост нанотрубок различного размера.

Результаты исследования, опубликованные в журнале *ACS Catalysis*, позволяют значительно лучше понять наноструктуру поверхности таких

многокомпонентных каталитических систем, разработать новые, более экономичные способы получения углеродных нанотрубок, а проведенные в этой же работе теоретические исследования объясняют возможность образования углеродных нанотрубок в результате конденсации циклопарафениленовых колец. Понимание закономерностей структурирования поверхности в процессе получения катализатора позволяет более осмыслен-

но и целенаправленно регулировать его каталитическую активность, что приведет к получению новых активных катализаторов.

Углеродные нанотрубки представляют собой наноразмерные трубчатые структуры, стенки которых состоят из атомов углерода, организованных в виде соединенных между собой шестичленных циклов. Получение углеродных нанотрубок, систематическое изучение которых началось в начале 1990-х гг., ознаменовало собой начало эры нанотехнологий. Углеродные нанотрубки можно отнести к аллотропным модификациям углерода наряду с графитом и алмазом, однако, в отличие от последних, нанотрубки не встречаются в природе и являются ис-

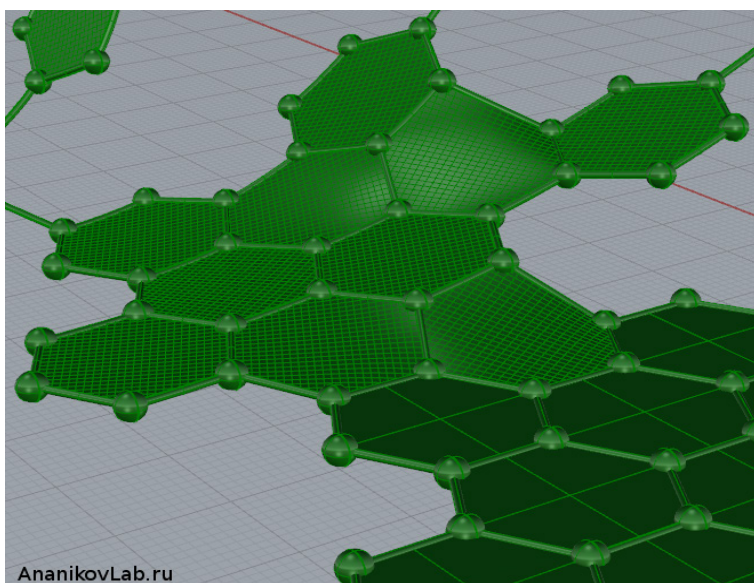
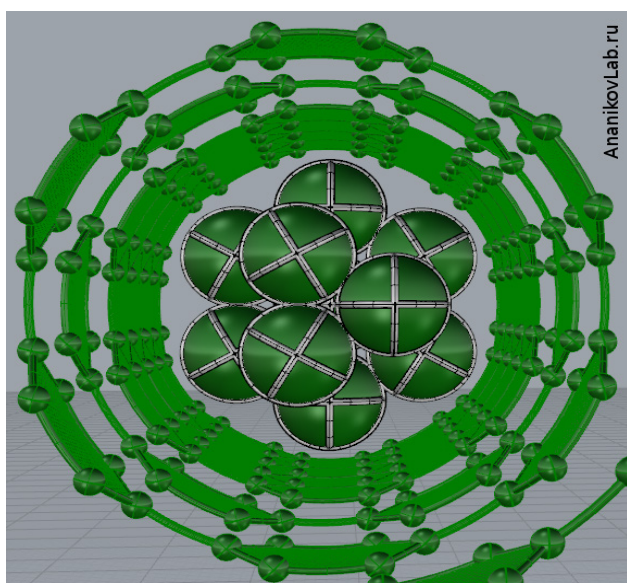


Рис. 1. Разогретые до высокой температуры наночастицы металлов инициируют «разрезание» графенового слоя, циклизацию углеродных нанолент, образование циклопарафениленовых колец и рост углеродных нанотрубок.

кусственными структурами. Нанотрубку можно представить как лист графена (плоский лист толщиной в один атом, состоящий из атомов углерода), свернутый в цилиндр и склеенный своими краями. Углеродные нанотрубки имеют широкий спектр как потенциальных, так и уже реализованных областей применения: они могут использоваться как наполнители композиционных материалов, сенсоры газов и различных активных молекул, компоненты наноэлектронных устройств и аккумуляторов энергии.

Одним из наиболее перспективных методов получения углеродных нанотрубок является метод химического осаждения из газовой фазы (CVD). Однако метод CVD имеет ряд существенных недостатков: высокая энергоёмкость, использование в качестве исходного сырья углеводородов, что приводит к небезопасности такой технологии.

Перспективным материалом для получения нанотрубок является графит, состоящий из уложенных друг на друга листов графена. Использование графита, возможно, приведет к более безопасной и экономичной технологии промышленного получения таких структур. Как же заставить плоские листы графита свернуться в нанотрубки? Будет ли такой процесс возможен по законам термодинамики?

«Лист графена разрезается на полоски шириной в одно ароматическое кольцо, затем каждая полоска сворачивается в цикл, соединяясь концами»

Согласно выдвинутой гипотезе, на первых стадиях процесса лист графена разрезается на полоски шириной в одно ароматическое кольцо. Затем каждая полоска сворачивается в цикл, соединяясь концами. В органической химии структуры с таким строением — циклопарафенилены — известны и получены экспериментально. После этого циклопарафениленовые кольца, которые можно рассматривать как сегменты будущей нанотрубки, соединяются вместе, формируя стенку трубки, одним своим концом прикрепленной к краям отверстия в листе графена, образованного раскаленной наночастицей металла. Все стадии процесса были смоделированы методами квантовой химии с использованием полупирических (PM6) методов и методов теории функционала плотности (B3LYP, oB97XD, M06, M06L) на примере образования нанотрубки типа (6,6).

В результате моделирования было установлено, что энергия такого процесса очень сильно зависит от состо-

яния краев исходного графенового листа. В случае, если каждый атом углерода на краях листа соединен с одним атомом водорода (реакция 1, рис. 2), реакция образования нанотрубки сопровождается выделением 20 молекул водорода и энергетически невыгодна, так как приводит к увеличению энергии в 2,5 ккал/моль на один атом углерода. Реакция с частично гидрированным краем листа графена (2) энергетически осуществима и сопровождается уменьшением энергии на 1,5 ккал/моль на один атом углерода. Наиболее энергетически выгодным процессом является образование трубки из полностью дегидрированного листа графена (3), которая сопровождается уменьшением энергии реагирующей системы на 4,6 ккал/моль на один атом углерода. Таким образом, трансформация графена в нанотрубку вполне вероятна.

Как же осуществить такое преобразование углеродной плоскости в трубку на практике? Начало этому может положить экспериментальная методика, отработанная авторами статьи, и основанная на использовании микроволнового излучения. Микроволновые технологии постепенно входят в повседневный инструментарий химиков в последнее время. Как и в методе CVD, здесь ключевую роль играют наночастицы металла. Если покрыть поверхность графита наночастицами металла (например, Ni или Fe) и затем материал подвергнуть действию микроволнового излучения в инертной атмосфере, происходит активный рост нанотрубок, катализируемый этими металлическими частицами. Причем частицы металла остаются связанными с растущим концом нанотрубки. Кроме того, некоторые расплавленные частицы металла перемещаются по поверхности графита, формируя наноканалы и разрезая листы графена на полоски и чешуйки различного размера. Эти явления открывают путь к получению наноструктурированных катализаторов, в которых наночастицы металлов не просто нанесены на поверхность графита, а включены в состав нанотрубок и дают возможность разработать методы структурирования поверхности графита в наномасштабе, используя раскаленные наночастицы металлов в качестве «выжигателей».

Источник: Evgeniy O. Pentsak, Evgeniy G. Gordeev, Valentine P. Ananikov. Noninnocent Nature of Carbon Support in Metal/Carbon Catalysts: Etching/Pitting vs Nanotube Growth under Microwave Irradiation. ACS Catalysis, 2014, Vol. 4. P. 3806–3814.

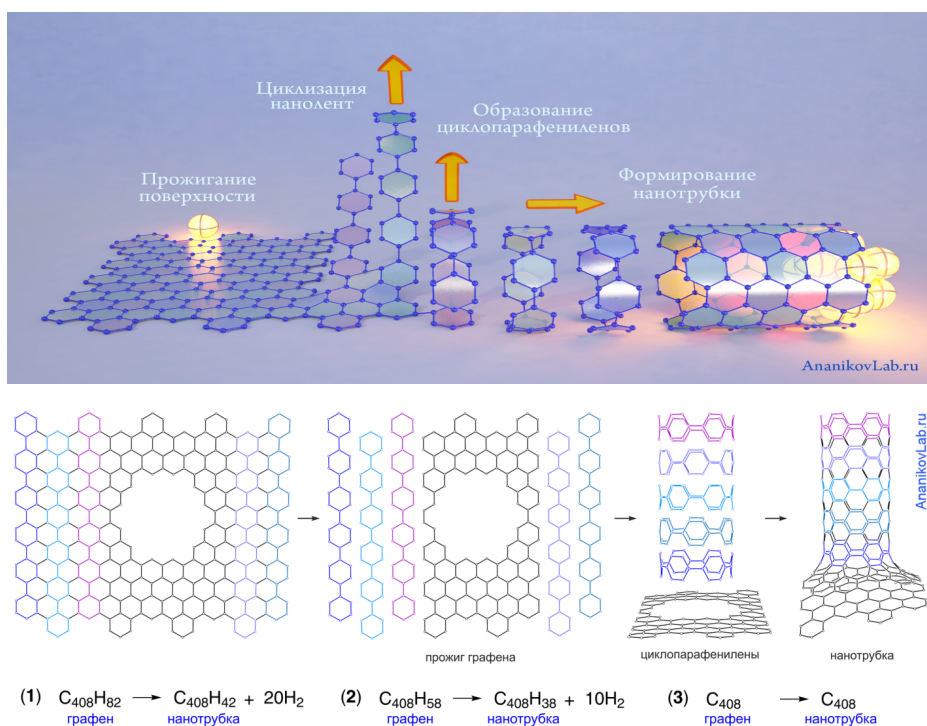


Рис. 2. Схема образования нанотрубки типа (6,6) из плоского листа графена. Реакции 1, 2 и 3 соответствуют исходным листам графена с различным количеством атомов водорода по краям.

Vol. 516, No 7530.  
11 декабря 2014 года



Vol. 111, No 49.  
9 декабря 2014 года



Vol. 346, No 6215.  
12 декабря 2014 года



## Nature · PNAS · Science: рефераты статей

### Естественные и точные науки

- 12** Физика  
и астрономия
- 14** Химические  
науки
- 16** Биологические  
науки
- 24** Компьютерные  
и информационные  
науки
- 25** Науки о Земле  
и смежные  
экологические  
науки

### Медицинские науки и общественное здравоохранение

- 27** Фундаментальная  
медицина
- 40** Клиническая  
медицина

### Гуманитарные науки

- 42** История  
и археология

### Техника и технологии

- 43** Электротехника,  
электронная  
техника,  
информационные  
технологии

- 44** Медицинские  
технологии
- 46** Нанотехнологии
- 47** Промышленные  
биотехнологии
- 48** Технологии  
материалов
- 50** Экологические  
технологии

### Социальные науки

- 51** Психологические  
науки
- 52** Социальная  
и экономическая  
география
- 53** Социологические  
науки
- 54** Экономика  
и бизнес

### Сельскохозяйственные науки

- 55** Сельское хозяйство,  
лесное хозяйство,  
рыбное хозяйство

### Междисциплинарные исследования

- 56**



## ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Физика и астрономия

### По результатам наблюдений молекул $H_2D^+$ сделан вывод, что возраст плотных облачных зон формирования звезд типа Солнца составляет 1 млн лет

$H_2D^+$  observations give an age of at least one million years for a cloud core forming Sun-like stars. Sandra Brünken, et al. Nature. Vol. 516. No 7530. P. 219–221.

Возраст плотных межзвездных облачных областей (ядер конденсации), в которых образуются звезды и планеты, является критическим трудноизмеримым параметром звездообразования. В некоторых моделях предсказывается быстрый коллапс, а в других этот процесс имеет характерный временной масштаб более одного миллиона лет. Возможный подход к определению этого возраста основан на изменении химического состава при сжатии облака, в результате чего изменяется отношение концентраций спиновых изомеров молекулярного водорода (орто- и параводорода)  $H_2$ , которое монотонно уменьшается с течением времени. Эти спиновые изомеры различаются направлением ядерных спинов протонов (параллельным и антипараллельным). С молекулами  $H_2$  тесно химически связаны спиновые изомеры дейтерированного катиона триводорода  $H_2D^+$ , а отношение концентраций пара- и ортокомпонент этих молекул является чувствительным индикатором возраста молекулярных облаков на продолжительном отрезке времени. Детектирование линий вращательных переходов молекул  $H_2D^+$  в основном состоянии стало возможным благодаря точным лабораторным измерениям частоты перехода и прогрессу измерительной техники. В работе сообщается о результатах наблюдений, выполненных с борта стратосферной обсерватории SOFIA в терагерцовом диапазоне с помощью радиометра GREAT. Измерялись вращательные абсорбционные и излучательные переходы параизомера  $H_2D^+$  на частоте 1,370085 ТГц (с длиной волны 219 мкм) для излучения, исходящего из протозвездной системы IRAS 16293–2422. Наблюдения проводились также на субмиллиметровом телескопе (APEX) в пустыне Атакама (Чили). IRAS 16293–2422 представляет тройную протозвездную систему звезд типа Солнца с возрастом менее 100 тыс. лет, включающую тесную двойную систему (A1/A2) и третий компонент В, удаленный на расстояние 600 а. е. от нее. Вся система окружена плотной газопылевой оболочкой с массой около двух масс Солнца, с убывающей к периферии температурой и плотностью. Плотное ядро молекулярного водорода с концентрацией порядка  $10^6$  см<sup>-3</sup> имеет температуру менее 20 К и находится в темном облаке Lynds 1689N (созвездие Змееносца) на расстоянии 120 пс. Наблюдения позволили измерить отношение концентраций орто/пара  $H_2D^+$  и, соответственно, орто/пара  $H_2$  в области протозвездного ядра. Профили наблюдавшихся линий моделировались с использованием данных о структуре ядра в сочетании расчетами с химического состава и переноса излучения. Сделан вывод о том, что плотное ядро газа химически эволюционировало не менее одного миллиона лет.

Г.В. Дедков

### Образование и свойства льда XVI, получаемого при опустошении клатратного гидрата типа sII

Formation and properties of ice XVI obtained by emptying a type sII clathrate hydrate. Andrzej Falenty, Thomas C. Hansen, and Werner Kuhs. Nature. 2014. Vol. 516. No 7530. P. 231–233.

Газовые гидраты представляют льдистые твердые вещества, в которых молекулы или атомы включений («гостей») захватываются внутри полостей кристаллической структуры клатрата («хозяина») — каркаса молекул воды, связанных водородными связями, стабилизируя структуру. Два основных типа газовых клатратных гидратов (sI и sII) имеют кубическую симметрию. В большом количестве они присутствуют на глубоком дне океанов, в вечной мерзлоте и могут образовываться внутри газопроводов, блокируя их. Клатратные гидраты широко распространены также в космическом пространстве за пределами Земли. Известно, что примесные атомы и молекулы небольшого размера, заполняющие полости клатратов, могут быть удалены, после чего образуются метастабильные пустые каркасы в чистом виде, обладающие необычными физическими свойствами. Таким путем, в частности, были получены клатратные структуры на основе каркаса атомов Si и Ge. В работе показано, что такая же стратегия может быть применена и к клатратам на основе воды. В качестве исходного материала использовался дейтерированный неон-клатрат. Образцы для исследований получали из сферических частиц льда со средним диаметром 18 мкм, которые формировались при резкой заморозке тумана из тяжелой воды  $D_2O$  в жидком азоте  $N_2$ . Капли воды создавались распылителем с помощью газовой струи  $N_2$  под давлением 0,6 МПа. Сферические частицы льда загружались в алюминиевые контейнеры объемом ~1 см<sup>3</sup> и затем помещались в камеру высокого давления, заполненную неоном при давлении ~0,35 ГПа и температуре 244 К на 30 мин. При этом происходил фазовый переход типа лед Ih — лед II (sII). Затем измельченные образцы подвергались непрерывной вакуумной откачке при 142 К в течение 5 сут, после чего формировалась клатратная структура льда, очищенного от неона, с плотностью 0,81 г/см<sup>3</sup>. Параметры кристаллической структуры очищенных клатратов исследовались методом нейтронной дифракции при температуре образцов 5К. В соответствии с номенклатурой известных кристаллических модификаций льда, лед XVI имеет минимальную плотность и, как ожидается, должен быть стабилен при низких температурах и отрицательных давлениях, т. е. при приложении растягивающих напряжений. Как показывают результаты, пустая клатратная структура льда XVI имеет отрицательный коэффициент теплового расширения при температурах ниже 55 К, он обладает более высокой механической прочностью и имеет более высокую постоянную решетки по сравнению с клатратами, заполненными неоном. Результаты работы свидетельствуют о важности кинетических эффектов и взаимодействий атомов включений с атомами каркаса клатратов, углубляя понимание свойств этих уникальных материалов.

Г.В. Дедков



## ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Физика и астрономия

### Модуляция времени жизни петель ДНК с помощью свободной энергии образования петли

Modulation of DNA loop lifetimes by the free energy of loop formation.  
Yi-Ju Chen, Stephanie Johnson, Peter Mulligan, Andrew J. Spakowitz,  
Rob Phillips. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17396–17401.

Хранение и считывание генетической информации в клетках — динамический процесс, требующий резких структурных перестроек ДНК. Характерный пример такой структурной перестройки, важный для транскрипционного регулирования как у прокариотов, так и у эукариотов, — петли ДНК. Скорость такого регулирования влияет на приспособленность индивидуального организма. Методом привязной частицы исследована *in vitro* динамика образования петли для классического генно-регуляторного *lac*-репрессора в *Escherichia coli*. Шарик микрометрового размера был привязан к одному концу линейной ДНК, другой конец которой был закреплен на покровном стекле микроскопа. Движения шарика соответствовали меняющейся эффективной длине ДНК и их регистрация позволяла фиксировать события формирования и разделения петли. Показано, что как замыкание, так и размыкание петель в соединениях ДНК-репрессора зависит от упругой деформации ДНК и протеина, а темпы как замыкания, так и размыкания приблизительно масштабируются как фактор  $J$ , характеризующий свободную энергию деформации системы. Это наблюдение объяснено с помощью теории переходного состояния и модели ДНК-протеинового

комплекса как червеобразной скрученной цепочки. Отмечено, что времена жизни, модулированные  $J$ -фактором, от 1 до 10 мин, сравнимы со временем деления *E. coli*. Зависимость скорости размыкания от упругости ДНК и протеина противоречит предыдущей трактовке фактора  $J$  как эффективной концентрации протеина. Построенная модель образования петель в коротких жестких цепях учитывает энергию изгиба, скручивания и связи. Энергия связи учитывает упругость протеина через введение финитного масштаба дистанции взаимодействия, модулирующего степень предпочтительного изгиба в зависимости от расстояния между концами. Времена жизни, получаемые из такой модели, находятся в хорошем согласии с полученными экспериментальными данными при реалистических физических параметрах. Кроме того, эта модель дает дополнительное понимание свойств переходного состояния и того, как упругая энергия изменяется в процессе реакции образования петли. Таким образом, введена финитная дистанция связи протеин — ДНК, конкурирующая с характеристическим размером деформации ДНК как физический источник наблюдаемой и ранее не идентифицированной динамики размыкания петель. Обсуждена устойчивость такого поведения при возмущении нескольких полимерных параметров. Отмечено, что дальний порядок кинетики открывания и закрывания петель, управляемый свободной энергией системы, мог бы быть более общей структурой, не зависящей от специфических переменных, связанных с репрессором и ДНК, а потому может быть применим к другим упругим системам, где эластичные связи важны для биологических функций, таким как реакция лиганд — рецептор или сборка протеинов.

А. В. Якименко

# ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ ·

## Химические науки

### Аномально большой изотопический эффект при стекловании воды

Anomalously large isotope effect in the glass transition of water. Catalin Gainaru, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17402–17407.

Обнаружен необычайно большой изотопический эффект, влияющий на структурную релаксацию и температуру стеклования воды. Диэлектрическая релаксационная спектроскопия аморфного водяного льда низкой плотности и льда, осажденного из пара, показывает разницу температур стеклования для  $H_2O$  и  $D_2O$  в  $10 \pm 2$  К, что резко отличается от поведения других жидкостей с водородными связями, где замена водорода на дейтерий обычно приводит к росту температуры стеклования менее чем на 1К. Температурная зависимость среднеквадратичного смещения атомов в водородном/дейтериевом льде вычислялась из обобщенной плотности вибрационных состояний, полученной наблюдением неупругого рассеяния нейтронов. Спектр некогерентного рассеяния пропорционален взвешенной плотности вибрационных состояний. Для измерения диэлектрических характеристик образцы льда низкой плотности охлаждались до 130 К (переход от фазы с высокой плотностью к фазе с низкой плотностью происходил в районе 135–140 К), после чего температура ступенчато поднималась с шагом в 3К, спектр регистрировался на каждом шаге после стабилизации температуры в пределах 0,1 К. Для измерений использовался анализатор импеданса. Пленка осажденного льда была получена на ячейке встречно-штыревых электродов, использовавшихся затем для измерений, при температуре 14 К. При достижении слоя в 20 нм температура поднималась до 148,5 К для  $H_2O$  и 158,5 для  $D_2O$ , после чего температура поднималась ступенчато с шагом 2 К и проводились измерения. Контрольные измерения проводились для содержащих как водород, так и дейтерий пропиленгликоля и глицерина, значительной изотопической зависимости для этих веществ не обнаружено. Таким образом, большой изотопический эффект для воды может считаться аномальным. Показано, что большой изотопический эффект и необычная вариация времен релаксации в воде при низких температурах могут быть объяснены в терминах квантовых эффектов. При температуре близкой к комнатной динамика воды определяется релаксацией поверх барьера и изотопический эффект выражен слабо. Но при понижении температуры квантовые эффекты начинают доминировать в структурной релаксации воды, что объясняет несколько обнаруженных аномалий: необычно низкое отношение температуры стеклования к температуре плавления, очень высокую хрупкость, очень сильную изотопическую зависимость температуры стеклования. Таким образом, по новому освещена необычная динамика воды при низких температурах и возможная роль квантовых эффектов в ее структурной релаксации. Возможно приложение полученных результатов к другим низкомолекулярным жидкостям, в том числе с целью определить, насколько общий характер имеет обнаруженный эффект.

А.В. Якименко

### Рациональное проектирование и синтез пептида с высокой биодоступностью на основе измерений температурных коэффициентов амидных групп с помощью ЯМР-спектроскопии

Rational design and synthesis of an orally bioavailable peptide guided by NMR amide temperature coefficients. Conan K. Wang, et al. PNAS. Vol. 111. No 49. P. 17504–17509.

Пептиды являются важной молекулярной основой для получения. Однако использование пептидных лекарств ограничено в связи с их низкой стабильностью в условиях *in vivo*, быстрым выведением из организма и слабой биодоступностью при пероральном приеме. Усиление биодоступности пептидного лекарства при его пероральном применении является основной проблемой при создании лекарств на основе пептидов. Поэтому методы, направленные на решение этой проблемы, очень востребованы фармацевтической промышленностью. В настоящей работе предложена стратегия улучшения биодоступности циклических пептидов путем идентификации в них амидных групп для их последующей химической модификации с использованием температурных коэффициентов и скорости водород-дейтериевого обмена, измеряемых с помощью метода ЯМР-спектроскопии. Авторы использовали набор циклических гексапептидных стереоизомеров в качестве модельной системы для изучения взаимосвязей между N-метилированием пептида, его конформацией и способностью проходить через мембрану. При этом авторы постулировали, что получаемые N-метилированные производные будут обладать улучшенными свойствами по сравнению с их неметилированными предшественниками. Предпочтение, отданное циклическим пептидам, было обусловлено тем, что циклизация пептида приводит к повышению жесткости его структуры и увеличению его устойчивости против протеолитической атаки. Кроме того, циклическая структура пептида предполагает образование определенных конформаций, которые могли бы благоприятствовать его прохождению через мембрану. N-метилирование как способ химической модификации пептида было выбрано авторами из-за того, что в результате этой модификации происходит эффективное скрывание экспонированных во внешнюю среду амидных групп и увеличение способности пептидов проникать в биологические мембраны. В результате выполненной работы был получен новый пептид со значением биодоступности после перорального введения крысам, равным 33%. В целом авторы в настоящей работе показали, что измерение с помощью ЯМР-спектроскопии температурных коэффициентов амидных групп может послужить структурным маркером для разработки пептидов, способных проникать через мембрану. По мнению авторов, разработанная ими стратегия имеет преимущество перед традиционными подходами к разработке лекарств, основанными на изучении структурно-функциональных взаимосвязей, так как она позволяет относительно быстро получить необходимую информацию по всем амидным группам и потенциальным сайтам для химической модификации. Авторы продемонстрировали возможность приложения этой стратегии для разработки пептидных структур с терапевтическим потенциалом. Также показано, что подход может быть использован для объяснения заметного возрастания биодоступности аналога соматостатина после его перорального приема.

И.М. Мохосоев

## ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Химические науки

### Химическую основу эффективного катализа хоризматмутазой обеспечивает электростатическая стабилизация переходного состояния, а не дестабилизация реагента

Electrostatic transition state stabilization rather than reactant destabilization provides the chemical basis for efficient chorismate mutase catalysis. Daniel Burschowsky, André van Eerde, Mats Ökvist, Alexander Kienhöfer, Peter Kast, Donald Hilvert, Ute Krengel. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17516–17521.

Теория переходного состояния является основой для понимания работы ферментативного катализа. По предположению Л. Полинга, ферменты ускоряют химические реакции благодаря преимущественному связыванию переходного состояния субстрата, тем самым снижая энергию активации по сравнению с соответствующим некатализируемым процессом. Авторы данной работы решили проверить данную теорию применительно к ферменту хоризматмутазе (chorismate mutase, ХМ), который катализирует реакцию превращения хоризмовой кислоты в префеновую без изменения молекулярной формулы. Данная реакция является перегруппировкой Кляйзена. Ввиду того, что хоризмат в водном растворе существует в виде вытянутой псевдодиекваториальной конформации, для достижения им переходного состояния в первую очередь необходимо, чтобы субстрат претерпел энергетически невыгодное конформационное

изменение для преобразования в редкий псевдодиаксиальный конформер, в котором энолпирувильная боковая цепь расположена над циклогексадиеновым кольцом. Предполагалось, что способность белка по достижению такого конформационного состояния полностью отвечает за эффективность катализа. Другими словами, решающим фактором в катализе СМ является скорее дестабилизация основного состояния, чем стабилизация переходного состояния. Используя метод рентгеновской кристаллографии авторы статьи показали, что медленный вариант ХМ *Bacillus subtilis*, в котором катионный аргинин активного центра был заменен нейтральным цитруллином, является плохим катализатором, несмотря на то, что он эффективно реорганизует хоризмат для реакции. Авторы сделали серию молекулярных снимков в координатах реакции с высоким разрешением, в том числе апофермента, фермента в комплексе с субстратом, аналога переходного состояния субстрата и продукта реакции. Анализ показал, что активного сайта фермента, который является комплементарным по форме реактивному конформационному состоянию субстрата, недостаточно для эффективного катализа. Наоборот, как и у других ферментов, электростатическая стабилизация переходного состояния имеет решающее значение для достижения высокой скорости реакции. Таким образом, правильное понимание роли электростатических взаимодействий в этом и других ферментах является важным условием для успешной разработки новых ферментов *de novo*.

Л.А. Шустикова

## ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

### Защита от использования бактериями железа организма-хозяина путем быстрой эволюции трансферрина

Escape from bacterial iron piracy through rapid evolution of transferrin. Matthew F. Barber, Nels C. Elde. *Science*. 2014. Vol. 346. No 6215. P. 1362–1367.

Защита от использования бактериями железа организма-хозяина — один из механизмов врожденной защиты, так называемого пищевого иммунитета. Молекулярные основы этой борьбы за железо изучены хорошо, но ее роль в эволюции до сих пор не установлена. В данном исследовании было изучено участие белка-переносчика железа трансферрина в эволюционных конфликтах, затрагивающих бактериальный поверхностный рецептор трансферрина TbpA. Для этого были клонированы и секвенированы ортологи трансферрина 21 вида обезьян. Филогенетический анализ на основе различных алгоритмов максимального правдоподобия, учитывающий соотношение синонимичных и несинонимичных замен, выявил признаки положительного отбора в последовательностях трансферрина в нескольких ветвях приматов. 16 из 18 быстро эволюционирующих сайтов было обнаружено в С-доме трансферрина, несмотря на то, что N-домен функционально гомологичен С-дому. Более того, у человекообразных обезьян признаки положительного отбора наблюдаются исключительно в С-доме, а N-домен эволюционировал под действием отрицательного отбора. Было показано, что рецептор трансферрина приматов также был подвержен отрицательному отбору. Лишь один из 18 сайтов быстрой эволюции в трансферрине контактирует с этим рецептором. Это говорит об отсутствии коэволюции трансферрина и его рецептора у приматов. При этом анализ кристаллической структуры с высоким разрешением комплекса трансферрина человека и TbpA показал, что 14 из 16 сайтов быстрой эволюции в С-доме контактируют с TbpA, причем в участках, необходимых для взаимодействия этих белков. Со вспомогательным бактериальным корецептором TbpB, связывающимся с С-домом трансферрина, сайты быстрой эволюции, напротив, не контактируют. Таким образом, положительный отбор в С-доме, вероятно, связан исключительно с взаимодействием с TbpA и его предшественниками. Для определения функциональных последствий быстрой эволюции трансферрина приматов были проведены конкурентно-связывающий и ИФА-анализы взаимодействия трансферринов с TbpA специфических для человека патогенов *Neisseria gonorrhoeae* и *Haemophilus influenzae*. Рецептор обоих патогенов эффективно связывался с трансферрином человека и гориллы, но не шимпанзе, орангутанга, гиббона и бабуинов. Замена глутамата 591 на лизин у человека нарушает взаимодействие трансферрина и TbpA, тогда как замена K591E у шимпанзе делает это связывание возможным. Таким образом, дивергенция трансферринов среди человекообразных приматов достаточна, чтобы вызвать различия в эффективности его связывания с TbpA. Вероятно, это составляет основу характерного для человекообразных приматов механизма защиты от «пиратства» бактерий. В TbpA родов *Neisseria* и *Haemophilus* было найдено соответственно 10 и 9 сайтов положительного отбора (один из них — общий для этих двух групп). Замена аргинина 365 в последовательности *N. gonorrhoeae* на глутамин, занимающий эту позицию у *H. influenzae*, препятствовала связыванию трансферрина человека. Таким образом, быстрая эволюция TbpA также вносит вклад во взаимодействие TbpA и трансферрина.

А.Л. Братцева

### Клеточная дифференциация и разделение на половые и соматические клетки у эдиакарских эмбрионоидных ископаемых животных

Cell differentiation and germ–soma separation in Ediacaran animal embryo-like fossils. Lei Chen, Shuhai Xiao, Ke Pang, Chuanming Zhou, Xunlai Yuan. *Nature*. 2014. Vol. 516. No 7530. P. 238–241.

Китайская фосфоритоносная формация Доушаньто (пров. Гуйчжоу, Китай) известна находками микроорганизмов эдиакарского периода (~ 600 млн лет), представляющих собой сфероидных ископаемых животных (*Megasphaera*) с палитомическим характером деления клеток. Для такого типа развития характерно быстрое деление клеток без промежуточного роста цитоплазмы, приводящее к экспоненциальному росту за счет удвоения числа клеток. При этом по мере роста размер самих клеток экспоненциально уменьшается. Разные исследователи относили *Megasphaera* к сульфидокисляющим бактериям, одноклеточным простейшим, мезомицетозоям из группы *Holozoa*, зеленым водорослям, близким *Volvox*, эмбриональным бластулам ранних многоклеточных и билатеральным животным. В любом случае, не зная ничего об их жизненном цикле и о том, была ли в нем онтогенетическая стадия клеточной дифференциации, трудно было давать оценку этим филогенетическим интерпретациям. Недавно в фосфоритах формации Доушаньто были сделаны новые находки *Megasphaera*, представляющих уже более позднюю стадию развития ранее описанных бластула-подобных фоссилий с явными признаками клеточной дифференциации, разделением клеток на соматические и гаметы и программируемой клеточной смертью. Многочисленные находки *Megasphaera*, как ранней *Parapandorina*-, так и поздней *Megaclonophycus*-стадий позволили проследить этапы развития этих многоклеточных — от бластомероподобных монад, через диады, тетрады и вложенные структуры типа «матрешек» к более сложным многоклеточным структурам. Структуры типа «матрешек» были обнаружены впервые. Возможно, это бесполое репродуктивные структуры, близкие к гонидиальным эмбрионам *Volvox carteri*. Если это так, то клеточная дифференциация на соматические клетки и гаметы происходила, скорее всего, на стадии «матрешек». Поскольку рост «матрешек» был ограничен постоянным размером окружающей оболочки, на этой стадии запускался процесс программируемой смерти соматических клеток, которые «жертвовали» собой ради поддержания репродуктивной функции организма. Возможно, это «альтруистическое» поведение соматических клеток является процессом, близким к семейному отбору, наблюдаемому у ранних колониальных и многоклеточных организмов. А тогда это — ключевой шаг к настоящим многоклеточным организмам. Итак, сам факт сложной многоклеточности *Megasphaera* опровергает гипотезы их филогенетического родства с бактериями, одноклеточными простейшими или с мезомицетозоями из группы *Holozoa*. Полученные данные также не дают оснований относить их к отдельной кроновой группе или к зеленым водорослям семейства вольвоксовых. Авторы подчеркивают, что у *Megasphaera* присутствуют признаки клеточной дифференциации, характерной для многоклеточных эукариотов. Скорее всего, они близки к водорослям или к животным стволовой группы филогенетического дерева. Для более точного определения филогенетической позиции сфероидных фоссилий из Доушаньто нужны дополнительные данные.

В.В. Стрекопытов



## ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

### Программируемое распознавание и расщепление РНК с помощью иммунной системы CRISPR/Cas9

Programmable RNA recognition and cleavage by CRISPR/Cas9. Mitchell R. O'Connell, et al. Nature. 2014. Vol. 516. No 7530. P. 263–266.

Иммунные системы (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) CRISPR–Cas должны отличать молекулы ДНК собственного организма от чужеродных ДНК, чтобы исключить вероятность аутоиммунной реакции. CRISPR-ассоциированный белок Cas9 является РНК-направляемым ферментом, ДНК-эндонуклеазой. Он функционирует в составе комплекса с особой молекулой РНК — «гид»-РНК (Cas9–gRNA). Фермент Cas9 использует свойство комплементарности РНК — ДНК, чтобы выявлять те участки специфической последовательности двухцепочечной ДНК (дцДНК), которые Cas9 определяет как мишени для расщепления. В окружении собственного организма фермент Cas9 действует исключительно на чужеродные субстраты ДНК. Это обусловлено тем, что и для связывания и активации катализа белку Cas9 сперва необходимо распознать короткий участок в нуклеотидной последовательности ДНК, известный как PAM (Protospacer Adjacent Motif). В CRISPR–Cas системах типов I и II последовательности PAM, как правило, примыкают к участкам-мишеням в составе нуклеотидной последовательности чужеродных ДНК. Наличие последовательности PAM является указанием на то, что эти участки-мишени могут быть подвергнуты деградации. В тоже время потенциальные мишени в CRISPR локусах организма хозяина не содержат PAM последовательностей. Это позволяем им избежать участи чужеродных ДНК потому, что они не образуют с gRNA соответствующих комплексов. Участки-мишени представляют собой специфическую последовательность нуклеотидов, состоящую, как правило, из 20 пар оснований. Последовательности PAM направляют комплексы Cas9–gRNA на потенциальные сайты-мишени и вызывают активацию нуклеазного домена. Фермент Cas9 из бактерии *Streptococcus pyogenes* распознает 5'-NGG-3'-PAM на нецелевой (перемещенной) нити ДНК. Авторы показали, что Cas9 связывается с высоким сродством с одноцепочечными молекулами-мишенями РНК (ssRNA), используя направляющую последовательность gRNA после того как PAM появляется в транспозиции в виде отдельного олигонуклеотида в последовательности ДНК. Кроме того, PAM-представляющие олигонуклеотиды (PAMmers) стимулируют сайт-специфическое эндонуклеолитическое расщепление ssRNA, подобно PAM-опосредованному стимулированию расщепления ДНК, катализируемого ферментом Cas9. С помощью специально разработанных PAMmers фермент Cas9 может быть специально направлен на связывание или разрезание ssRNA, не затрагивая при этом соответствующие последовательности ДНК. Показано, что этот метод позволяет выделять требуемую молекулу эндогенной информационной РНК из клеток. Авторы считают, что полученные результаты доказывают наличие фундаментальной связи между связыванием фермента Cas9 с мотивом PAM и выбором субстрата. Они особо подчеркивают преимущества применения фермента Cas9 для программируемого распознавания транскриптов заключающееся в том, что при этом нет необходимости использовать теги. Метод, использующий Cas9, является универсальным инструментом в исследованиях геной инженерии и геной регуляции.

С.К. Жармухамедов

### Рентгеноструктурный анализ активируемой кальцием липидной скрамблазы TMEM16

X-ray structure of a calcium-activated TMEM16 lipid scramblase. Janine D. Brunner, Novandy K. Lim, Stephan Schenck, Alessia Duerst, Raimund Dutzler. Nature. 2014. Vol. 516. No 7530. P. 207–212.

Семейство белков TMEM16, также известных как аноктамины, отличается от других белковых семейств тем, что члены этого семейства, несмотря на сходство структуры, значительно отличаются друг друга по выполняемой ими функции. Эти белки могут функционировать, например, как активируемые ионами кальция ионные каналы или активируемые ионами кальция скрамблазы, которые катализируют перемещение липидов между внутренней и внешней сторонами фосфолипидного бислоя, в процессе, который протекает независимо от АТФ. В это семейство входят мембранные белки, которые экспрессируются только в эукариотических клетках. В их число входят активируемые ионами кальция каналы ионов хлора, скрамблазы липидов и ионные каналы. Члены семейства белков TMEM16 катализируют пассивное перемещение липидов внутри бислоя. Этот процесс очень важен для биогенеза мембран эндоплазматического ретикулума, а также для переноса липидов в различных процессах, протекающих в живом организме, в том числе, в процессах свертывания крови, апоптозе, гликозилировании и образовании клеточной стенки у бактерий. У позвоночных в это семейство входит десять белков, для которых характерна высокая консервативность структуры. В настоящей работе авторы представили кристаллическую структуру белка из грибов *Nectria haematococca*, который входит в семейство белков TMEM16, который функционирует как активируемая кальцием скрамблаза липидов. В полученной структуре особо выделяются два участка, которые преимущественно контактируют с мембраной: большая, преимущественно гидрофобная полость, образуемая димером, и полость, которая формируется в субъединице, т. е. гидрофильный пронизывающий мембрану желобок, присутствующий в каждой субъединице. Каждая субъединица этого гомодимерного белка содержит высоко консервативный участок, погруженный в гидрофобное ядро мембраны, состоящий из десяти трансмембранных спиралей, и гидрофильную полость, обращенную в трансмембранное пространство, которая может выступать в качестве потенциального сайта для катализа. Именно в этой полости внутри гидрофобного ядра мембраны располагается сайт связывания иона кальция. В связывании ионов кальция задействованы шесть аминокислотных остатков, и пять остатков несут отрицательный заряд. Этот кальций-связывающий участок играет существенную роль в контроле процесса переноса липидов и ионов. Замены аминокислотных остатков, участвующих в координации ионов кальция, оказывают влияние как на перенос липидов белками TMEM16, так и на проводимость ионов в клетках *N. Haematococca*. Если функциональное значение полости, образуемой димером, пока неясно, то полость внутри субъединицы скорее всего связана с активацией ионов кальция и, возможно, с каталитическими свойствами белка.

И.М. Мохосоев

## ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

### В процессе дыхания митохондрий дрожжей происходит перенос гема от цитохром-с-пероксидазы на каталазу

Respiration triggers heme transfer from cytochrome c peroxidase to catalase in yeast mitochondria. Meena Kathiresan, Dorival Martins, Ann M. English. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17468–17473.

В дрожжевых клетках, находящихся на стадии экспоненциального роста, гем-содержащий фермент цитохром-с-пероксидаза (Ccp1) расположена во внешней митохондриальной мембране и направлена в межмембранное пространство. При удалении источника ферментации (глюкозы) клетки переключаются на дыхание, приводящее к значительному повышению уровня перекиси водорода в митохондриях. В течение долгого времени предполагалось, исходя из эффективности этой пероксидазы в условиях *in vitro*, что активная Ccp1 отвечает за обезвреживание перекиси водорода в митохондриях. Однако в настоящей работе авторы обнаружили, что большое количество Ccp1 покидает митохондрии дышащих клеток. При этом, авторы не обнаружили Ccp1 в активном состоянии вне митохондрий. Было установлено, что этот фермент пересекает внешнюю мембрану митохондрий в апо-форме, т. е. в свободном от гема состоянии. Параллельно с выходом апо-Ccp1, в клетках наблюдалась возросшая активность каталазы A (Cta1), изоформы каталазы, присутствующей в митохондриях и пероксисомах у дрожжей. Предположили, что Cta1, может выступать реципиентом гема, высвобождающегося из Ccp1. В пользу этого утверждения свидетельствует низкая активность каталазы в дефицитных по Ccp1 клетках и накоплением холофермента Ccp1 в митохондриях клеток, дефицитных по Cta1. В настоящей работе авторы предположили, что во время окислительного взрыва в клетках при их дыхании происходит ослабление связывания гема Ccp1 под действием перекиси водорода. Для проверки гипотезы авторы получили рекомбинантную Ccp1 и подвергли ее воздействию избытка H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в условиях *in vitro*. В этих условиях они наблюдали перенос гема на апомиоглобин, добавленный в качестве суррогатного акцептора гема. Было обнаружено, что в Ccp1, находящейся вне митохондрий, проксимальный лиганд иона железа (остаток His175) примерно на 85% находится в окисленном состоянии (2-оксогистидин). Авторы пришли к заключению, что Ccp1 отвечает на образующуюся при дыхании митохондрий H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> через ранее неизвестный механизм активирования H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> переноса гема на Ccp1. Именно каталазная, а не пероксидазная активность ассоциирована с обезвреживанием токсичной для клеток H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в митохондриях. Т. о., по мнению авторов, в данной работе впервые получены доказательства в пользу инициируемого H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> переноса гема между белками в условиях *in vitro* и *in vivo*. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> связывается с гемом в Ccp1 и лабилизирует его, окисляя проксимальный лиганд иона Fe (His175), что вынуждает Ccp1 перенести гем на Ccp1. После освобождения от гема апо-форма Ccp1 покидает митохондрию. Эта последовательность событий: лабилизация гема перекисью водорода, перенос гема между белками и смена расположения белков, определяет новый H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-опосредованный сигнальный путь, который отличается от хорошо известных сигнальных путей с участием перекиси водорода, где задействованы SH-группы белков.

И.М. Мохосоев

### Оптимальное распределение ресурсов в клеточных сенсорных системах

Optimal resource allocation in cellular sensing systems. Christopher C. Govern, Pieter Rein ten Wolde. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17486–17491.

Клетки могут измерять концентрации химических элементов и веществ с исключительной точностью. Естественно возникает вопрос, каким образом достигается эта точность. Клетки измеряют концентрации через рецепторы, расположенные на их поверхности. Эти измерения неизбежно усложняются из-за фонового шума, который возникает в связи со стохастическим поступлением молекул лигандов в результате диффузии и стохастического связывания лиганда с рецептором. Берг (Berg) и Перцель (Purcell) предположили, что клетки могут снижать вероятность ошибки измерения, увеличивая число независимых измерений. Этой цели можно достичь увеличив число рецепторов или увеличить число измерений с участием одного рецептора в единицу времени. В последнем случае клетка определяет концентрацию лиганда на основе средней загруженности рецептора в течение интегрируемого времени  $T$ . Интегрируемое время используется сигнальными сетями, которые передают информацию с поверхности внутрь клетки. Однако в работах, посвященных данной проблеме, до сих пор не учитываются затраты на создание и функционирование сигнальных сетей. Синтез белков является затратным делом для любой клетки и продукция белков, которые не приносят выгоды для клетки, может замедлить рост бактерий. Более того, многие сети функционируют благодаря термодинамическому равновесию, которое достигается в результате непрерывного оборота энергетических молекул, как например АТФ, приводящего к рассеиванию тепла. Действительно, можно подсчитать, что энергия, необходимая для работы сенсорной сети, сравнима с затратами, необходимыми для синтеза новых компонентов клетки после клеточного деления. В настоящей работе авторы представили теорию, позволяющую осуществлять оптимальный дизайн сенсорных систем, и которая увеличивает точность определения, присущую доступным клеточным системам. Согласно представленной авторами теории существует три класса ресурсов, необходимых для работы сенсорных систем: рецепторы и время их интеграции, сигнальные молекулы и энергия. Каждый класс ресурсов устанавливает предел чувствительности, который означает, что точность сенсорных систем связана с лимитирующим классом ресурсов и не может быть увеличена при увеличении другого класса, т. е. различные классы не могут компенсировать друг друга. Полученные в данной работе результаты демонстрируют ранее неизвестный принцип для дизайна сенсорных систем. Он заключается в оптимальном распределении ресурсов в сенсорной системе клетки. Согласно этому принципу, в оптимально построенной сенсорной системе каждый класс ресурсов в равной степени ограничен и ни один из ресурсов не может быть неучтен. Авторы апробировали свою теорию на наиболее хорошо охарактеризованной сенсорной системе в биологии, а именно, сети хемотаксиса у *Escherichia coli*. В результате проведенного ими анализа было установлено, что эта сеть подчиняется принципу оптимального распределения ресурсов.

И.М. Мохосоев

## ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

### Траектории рибосом в представлении броуновских наномашин

Trajectories of the ribosome as a Brownian nanomachine. Ali Dashti, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17492–17497.

Броуновская машина — крошечное устройство, подвергающееся воздействию со стороны хаотически двигающихся молекул окружающей среды, его основной особенностью является способность использовать эти случайные тепловые столкновения для формирования многочисленных конформационных изменений (КИ) в своем рабочем цикле. В идеале хотелось бы видеть КИ Броуновской машины в то время как она проходит свою траекторию рабочего цикла вдоль энергетического ландшафта. Эта информация особенно актуальна для биологических молекулярных машин, таких как рибосомы, которые отвечают за синтез белка во всех живых клетках. Наиболее важным в изучении функционирования рибосом, как биологической броуновской машины, является процесс ее элонгации. Считается, что многие промежуточные конформационные состояния (КС) рибосомы могут быть вовлечены в ее элонгационный цикл, но подобные высказывания являются лишь предположениями, хотя они и основываются на впечатляющем наборе экспериментальных данных и методов. В качестве основных подходов в изучении биологических машин (в частности рибосом) используются криогенная электронная микроскопия и рентгеноструктурный анализ. В начале исследования с помощью указанных выше методов происходит определение нескольких КС, пойманных в биохимических «ловушках», расположенных вдоль конформационной траектории. Тем не менее, отмечается, что фиксируемые состояния, скорее всего, представляют лишь малую часть полного набора КС, способных соответствовать каждой из определенных биохимических ловушек. Наблюдаемые промежуточные структуры могут быть подвержены влиянию со стороны процесса захвата ловушкой, что в свою очередь может приводить к ошибкам в определении корректного набора состояний. После сбора первичных данных используются мощные алгоритмы для сортировки снимков криогенной электронной микроскопии и объединение их в небольшое количество дискретных классов, каждый из которых предположительно представляет собой промежуточное состояние. Однако в подобных методах существует множество проблем препятствующих получению полного и корректного набора состояний, с последующим использованием его в моделировании поведения рибосомы. Например, в некоторых случаях снимки основных участков рибосомной траектории с большой степенью конформационной гибкости, не подвергаются классификации даже с использованием самых передовых аналитических методов. Авторы данной работы предложили свой подход в решении этих проблем, его основной особенностью является изучение непрерывных КИ, характеризующих траекторию поведения биологических наномашин (рибосом) на базе количественного анализа энергетического ландшафта и степеней свободы рассматриваемой структуры, которые лежат в основе этих изменений. Состоятельность и эффективность данного метода были подтверждены при исследовании поведения очищенных рибосом дрожжей. В результате было установлено, что этот метод позволяет обойти многие из существующих ныне проблем данной области биологии, также он не базируется на каких-либо конкретных моделях поведения рибосом, разработанных на данный момент, что делает его универсальным для исследования различных биологических механизмов.

В.Н. Раков

### Разные роли белка фотосистемы II, PsbS, и зеаксантина в регулировании захвата света у растений, выявленные с помощью анализа времени жизни флуоресценции хлорофилла

Distinct roles of the photosystem II protein PsbS and zeaxanthin in the regulation of light harvesting in plants revealed by fluorescence lifetime snapshots. Emily J. Sylak-Glassman, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17498–17503.

Одним из способов регулирования захвата фотонов растениями является включение и выключение механизмов, рассеивающих избыток поглощенной энергии. Диссипация энергии оценивается по величине нефотохимического гашения (NPQ). Энергозависимое гашение (qE) является компонентом NPQ и имеет самые быстрые кинетики. Включение и выключение qE происходит быстро в диапазоне времени от нескольких секунд до минут. Такая оперативность позволяет растениям реагировать на быстрые колебания интенсивности света и уменьшает вероятность фотоповреждений в случае резкого повышения интенсивности света. При освещении в тилакоидах растений образуются градиент электрического потенциала ( $\Delta\psi$ ) и градиент концентрации протонов ( $\Delta pH$ ) через мембрану тилакоида. Предполагается, что  $\Delta\psi$  может играть некую роль в qE, но только  $\Delta pH$  служит пусковым механизмом, заставляющим разные белки и ферменты индуцировать qE. Белок PsbS фотосистемы II и фермент виолаксантиндеэпоксидаза (VDE) — основные известные факторы, индуцирующие qE. Мутант *npq1*, в котором нет VDE, имеет фенотип с низкой величиной qE по сравнению с диким типом. Предполагается, что зеаксантин может гасить возбужденное состояние хлорофилла. Мутант *npq4*, в котором нет белка PsbS, не показывает никакого быстро обратимого гашения. Это служит указанием на то, что, PsbS необходим для qE *in vivo*. Еще не было исследований, где было бы показано, что эти белки изменяют тип гашения. Измерения времени жизни флуоресценции хлорофилла характеризуют динамику релаксации возбужденного состояния. Они могут быть использованы для определения величины гашения и дают ответ на вопрос, будут ли иметь два разных генотипа с одинаковой величиной гашения одинаковую динамику релаксации. В статье авторы измерили времена жизни флуоресценции на целых листьях *Arabidopsis thaliana* на всем протяжении процесса индукции и релаксации NPQ у растений дикого типа и у qE-мутантов. Исследованы мутанты: *npq4*, в котором нет белка PsbS; *npq1*, в котором нет фермента VDE и, поэтому он не может превращать виолаксантин в зеаксантин; и двойной мутант *npq1-npq4*, в которой нет обоих белков, VDE и PsbS. Показано, что PsbS изменяет величину гашения и скорость, с которой тушение включается. Белок PsbS имеет самое сильное влияние на начальной стадии индукции тушения. Несмотря на это, белок PsbS не влияет на динамику релаксации возбужденного состояния хлорофилла в процессе гашения. Показано, что PsbS реагирует как на градиент  $\Delta pH$ , так и на градиент  $\Delta\psi$ . В отличие от белка PsbS, наличие фермента VDE влияет на динамику релаксации возбужденного состояния хлорофилла. Показано, что зеаксантин и PsbS необходимы для NPQ. Этот метод определения времени жизни флуоресценции позволяет изучить как кинетики включения и выключения гашения, так и динамику релаксации возбужденного состояния хлорофилла.

С.К. Жармухамедов

## ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

### Перестройка актинового цитоскелета регулируется механико-биохимической петлей обратной связи

A mechanical-biochemical feedback loop regulates remodeling in the actin cytoskeleton. M.R. Stachowiak et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17528–17533.

Актин — цитоплазматический глобулярный белок, образующий при полимеризации микрофиламенты — основу цитоскелета во всех эукариотических клетках. Вместе с другим белком, миозином, актин образует актомиозиновый комплекс, являющийся основным механизмом мышечного сокращения. В цитоплазме клетки устанавливается динамическое равновесие между двумя фазами актина: растворенными в цитоплазме одиночными молекулами (G-актин) и полимеризованным белком, образующим цитоскелет (F-актин). Это равновесие может сдвигаться в ту или иную сторону под действием внешних сигналов. В частности, актиновый цитоскелет передает механические напряжения, которые молекулярные сенсоры затем преобразуют в биохимические сигналы, запускающие перестройку самого цитоскелета и другие внутриклеточные процессы. Молекулярные механизмы этого преобразования до сих пор неизвестны. Авторы исследовали сокращающиеся актомиозиновые стрессорные волокна (stress fibers) эмбриональных фибробластов дождевой мыши (*Mus musculus*). Когда такие волокна ломаются, они реагируют отдергиванием и разборкой цитоскелетного актина. Оказалось, что скорость разборки при этом возрастает более чем вдвое по сравнению с состоянием покоя, но лишь в том случае, если сокращение увеличивает концентрацию актина выше порогового значения. Согласно разработанной авторами математической модели, причина состоит в увеличении перекрывания актиновых филаментов из-за сокращения, производимого миозином II. При превышении некоторой пороговой величины перекрывания механический сигнал запускает ускоренную разборку филаментов посредством механизма, который может чувствовать изменение перекрывания непосредственно или через вызванные им напряжения эластичной среды. Этот биохимический ответ приводит к понижению концентрации актина, уменьшает перекрывание и ослабляет напряжение. Модель показывает, что данный механизм обратной связи, вместе с быстрой передачей механического напряжения по пучку актиновых волокон, производит пространственно-временную синхронизацию разборки цитоскелета и сокращения волокна. Подобная кинетика перестройки актина имеет место и при вытягивании и сокращении интактных стрессорных волокон, но в гораздо больших масштабах времени. Модель аккуратно описывает и эту кинетику, с почти идентичным значением порогового перекрывания, после которого начинается ускорение разборки. Для тех же волокон в покое модель предсказывает постоянное перекрывание актина, которое приводит к динамическому равновесию процессов сборки и разборки на определенном уровне. Измерения, произведенные авторами, подтвердили эти предсказания как качественно, так и количественно. Полученные результаты объясняют, как система преобразования сигнала позволяет актомиозиновым волокнам динамически реагировать на меняющиеся механические напряжения.

А.Б. Образцов

### Критическое замедление как ранний предвестник надвигающегося коллапса в мутуалистических сообществах

Critical slowing down as early warning for the onset of collapse in mutualistic communities. Vasilis Dakos, Jordi Bascompte. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17546–17551.

Сложные системы, такие как климатические, финансовые, экологические, порой переживают переломные моменты своего развития, когда, казалось бы, небольшие изменения внешних условий могут спровоцировать внезапный коллапс системы. Теоретически, до достижения переломного момента система всегда стремится компенсировать случайные внешние воздействия, как бы «откатываясь назад» к состоянию равновесия. При этом возникает так называемый феномен «критического замедления», генерирующего в точке отката широкий спектр локальных бифуркаций. Критическое замедление в сложных динамических системах может быть зафиксировано с помощью двух простых статистических сигналов: увеличения дисперсии и роста корреляции. В случае испытывающих внешнее воздействие (в частности, влияние антропогенного фактора) экологических сообществ, мы никогда не знаем, когда наступит переломный момент, но риски, возникающие при его наступлении, очень высоки. Задачей исследования было протестировать в качестве ранних сигналов наступления переломного момента индикаторы критического замедления в сложно структурированных экологических сообществах. Был смоделирован сценарий, при котором постепенное изменение условий внешней среды приводит сначала к внезапному вымиранию одного из членов сообщества, затем — к исчезновению одного за другим еще нескольких видов, и в конце концов — к коллапсу экосистемы. Для имитационной модели были отобраны 79 эмпирических сообществ (типа «растение — опылитель» и «семена растений — переносчики семян») с характерными двусторонними мутуалистическими связями. Было обнаружено, что сигналами приближающегося коллапса экосистемы могут являться индикаторы критического замедления, полученные на основе временных серий измерений биомассы, как на уровне отдельных видов, так и на уровне сообщества в целом. Были также определены в качестве индикаторов особые (наиболее уязвимые) виды, мониторинг которых с большой достоверностью предсказывал приближение коллапса. Кроме того, оказалось, что тренды индикаторов критического замедления четко коррелируют с темпами исчезновения видов. Эта корреляция может стать основой для мониторинга устойчивости видов в данном экосообществе и оценке рисков их исчезновения. Проведенное исследование прокладывает дорогу дальнейшему использованию теории переломных моментов в мониторинге сложных систем с сетевыми взаимодействиями. Обнаруженные закономерности не только подтверждают существование динамических признаков приближающихся переломных моментов (критических точек системы), но и указывают на возможность раннего обнаружения наиболее уязвимых членов сообщества. Данный подход может стать полезным для управления самыми разными экологическими системами в условиях глобального изменения окружающей среды.

В.В. Стрекопытов



## ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

### Исследование музейных образцов свидетельствует о том, что исчезновение растений-носителей пыльцы является ключевым фактором сокращения популяций диких пчел в Нидерландах

Museum specimens reveal loss of pollen host plants as key factor driving wild bee decline in the Netherlands. Jeroen Scheper, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17552–17557.

Очевидное сокращение популяций как диких, так и домашних пчел вызывает серьезное беспокойство в связи с потенциальной возможностью возникновения так называемого глобального кризиса опыления. Стратегии, направленные на предотвращение исчезновения пчел, обычно ставят своей целью увеличение массы цветочных растений. При этом мы не знаем, действительно ли сокращение цветочной массы как следствие освоения земель человеком является ключевым фактором снижения численности пчел, потому что трудно с достаточной точностью определить растительные предпочтения тех или иных видов пчел. Особенно это сложно сделать в случае исчезающих видов. Интересно, что популяции пчел, питающихся на растениях семейства злаковых, не только остаются стабильными, но даже разрастаются. В то же время, антропогенный фактор использования земель и интенсификации сельскохозяйственных технологий традиционно считается важнейшим фактором сокращения видового разнообразия в целом, и диких пчел в частности. Авторами была проведена оценка относительной важности ряда факторов, потенциально ответственных за сокращение популяций пчел в Нидерландах в XX столетии. Известно, что пчелы более избирательны в выборе растений при сборе пыльцы (источник протеина и минералов, как для личинок пчел, так и для взрослых особей), чем при сборе нектара (источник энергии). В работе рассматривается зависимость трендов изменения популяций пчел от трендов распространения растений-носителей пыльцы (растений-хозяев), а также от других факторов, например, климатических изменений. Растительные предпочтения различных видов пчел определялись в ходе изучения состава пыльцы пчелиных обножек из образцов музейных энтомологических коллекций, собранных еще до начала упадка популяций. Также использовались атласы данных для количественного определения трендов распространения растений-хозяев и связанных с ними видов пчел. Показано, что сокращение предпочтительных растений-хозяев было одним из двух важнейших факторов сокращения популяций пчел. Другим важным фактором является размер тела самой пчелы. Видимо, в условиях ограниченности питания размер тела стал иметь решающее значение, так как более крупные пчелы нуждаются в большем количестве пыльцы, чем мелкие. Широта пищевого диапазона, продолжительность полетного сезона, фенологические особенности, климатические изменения и другие потенциальные факторы имеют незначительное влияние на тренды изменения популяций пчел в XX столетии. Результаты исследования говорят о том, что проблему сокращения численности пчел надо рассматривать в разрезе конкретных видов пчел, предпочитающих конкретные виды растений-хозяев, и стратегии восстановления видового разнообразия пчел должны фокусироваться на восстановлении именно этих видов растений хозяев.

*В.В. Стрекопытов*

### Моделирование вариаций числа нейронов коры головного мозга у отдельных особей и представителей разных видов на основе общего механизма

Modeling local and cross-species neuron number variations in the cerebral cortex as arising from a common mechanism. Diarmuid J. Cahalane, Christine J. Charvet, Barbara L. Finlay. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17642–17647.

Массивное увеличение числа нейронов в коре головного мозга, приводящее к многократному увеличению размеров мозга, является ключевой чертой эволюции млекопитающих. Вопреки такой сильной вариабельности числа корковых нейронов среди млекопитающих и, следовательно, вариабельности когнитивных функций, фундаментальные процессы распределения нейронов по коре изменяются только в небольшой степени, от мелких грызунов к самым крупным приматам. То, каким образом может варьироваться динамика нейрогенеза, поможет понять, как геном обуславливает кортикальное развитие в норме и при патологии. Существуют систематические вариации в архитектуре коры у разных видов, такие же вариации наблюдаются вдоль пространственных осей в любой коре отдельно взятого индивида. Предлагаемая в данной статье математическая модель объясняет оба типа вариабельности как возникающие вследствие функционирования одного и того же механизма развития. В данной работе для построения математической модели нейрогенеза брались данные клеточных популяций как в развивающейся коре, так и в зрелой. Для этого было использовано более десятка видов млекопитающих. Известно, что популяция клеток-предшественников в вентрикулярных зонах около стенок желудочков претерпевает с самого начала симметричные деления, после которых обе дочерние клетки являются клетками-предшественниками. Нейрогенез начинается тогда, когда происходит несимметричное деление — дочерняя клетка становится дифференцированным нейроном и мигрирует из вентрикулярной зоны. В основу модели были положены такие эмпирически полученные параметры нейрогенеза как скорость клеточного цикла, скорость гибели клеток-предшественников и скорость «ухода» (пропорция терминальных клеточных делений). Все эти изменения кинетики нейрогенеза являются достаточными для объяснения огромной вариабельности числа кортикальных нейронов среди разных видов. Более того, пространственно-временные градиенты в этих же параметрах коры эмбрионов могут объяснить ступенчатые вариации архитектуры, наблюдаемые по всей зрелой коре. Данная модель не противоречит появляющимся анатомическим данным у разных видов и позволяет сделать несколько предсказаний. Во-первых, более существенное увеличение числа нейронов в одной кортикальной колонке должно наблюдаться в поздно развивающихся задних отделах коры. Во-вторых, степень вариабельности в коре должна возрастать с размером коры, достигая пятикратного увеличения у приматов. В-третьих, когда число нейронов возрастает, либо от вида к виду, либо от структуры к структуре в отдельно взятой коре, эти добавочные нейроны должны обнаруживаться в поздно развивающихся поверхностных слоях. Такие градуированные черты коры имеют вычислительное и функциональное значение, и таким образом, подвергаются отбору в эволюции. Т. о., специфические характеристики коры, считавшиеся эволюционно отбираемыми, оказались необходимым продуктом консервативного механизма.

*О.Е. Сварник*

## ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

### Белки FRG-1 и FRG-2 суперсемейства SNF2, осуществляющего ремоделирование хроматина, необходимы для РНК-направленного метилирования ДНК

SNF2 chromatin remodeler-family proteins FRG1 and -2 are required for RNA-directed DNA methylation. Martin Groth, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17666–17671.

Метилирование ДНК в регуляторных областях подавляет экспрессию генов, а нарушения в паттернах метилирования могут приводить к дефектам развития. Метилирование ДНК в *Arabidopsis thaliana* поддерживают, по крайней мере, 4 разных фермента: DNA METHYLTRANSFERASE1 (MET1), CHROMOMETHYLASE3 (CMT3), DOMAINS REARRANGED METHYLTRANSFERASE2 (DRM2), и CHROMOMETHYLASE2 (CMT2). Тем не менее, метилирование ДНК *de novo* осуществляется только ферментом DRM2, который действует в РНК-направленном метилировании ДНК (RdDM). РНК-направленное метилирование ДНК (RdDM) традиционно ассоциируется с мобильными элементами, но позже было показано, что процесс RdDM также направлен на регуляторные области генов, кодирующих белки. В *Arabidopsis*, метилирование ДНК происходит в CG, CHG и CHH последовательностях (H = A, T, или C) и поддерживается в ходе репликации ДНК с помощью различных механизмов. Метилирование симметричных последовательностей CG и CHG поддерживается белками, MET1 и CMT3. Метилирование асимметричных последовательностей CHH поддерживается белками CMT2 и DRM2. Кроме того, метилирование ДНК в *Arabidopsis*, кажется, более динамичным, чем считалось ранее, и может коррелировать с транскрипционным реагированием на экологические стрессы, такие как патогены. Таким образом, идентификация и характеристика механизмов RdDM имеет основополагающее значение для понимания того, как биологические признаки контролируются на эпигенетическом уровне. Традиционные скрининги результатов мутагенеза, как правило, не в состоянии обнаружить гены, если они являются избыточными, так как потеря одного гена может быть компенсирована соответствующим связанным геном. В попытке обойти эту проблему, авторы использовали данные соэкспрессии, чтобы определить тесно связанные гены, которые сорегулируются генами RdDM пути. Авторы провели скрининг, основанный на имеющихся данных соэкспрессии, и идентифицировали 2 ранее не известных гена, *FRG-1* и *FRG-2*, участвующих в RdDM пути. В статье авторы сообщают об открытии двух избыточных белков, SNF2-RING-HELICASE-LIKE-1 и -2 (*FRG-1* и *FRG-2*), которые являются предполагаемыми модификаторами хроматина и относятся к суперсемейству SNF2 геликаза-подобных белков. Метилирование ДНК авторы исследовали методом бисульфитного секвенирования. Анализ распределения бисульфита в последовательностях по всему геному показал, что одновременные мутации генов *FRG-1* и *FRG-2* вызывают дефекты метилирования в специфических RdDM целевых локусах. Авторы также показали, что белок *FRG1* физически взаимодействует с другим известным компонентом RdDM пути, ферментом гистон метилтрансферазой *SUVR2 in vivo*. Эти результаты идентифицируют белки *FRG-1* и *FRG-2* как ранее неизвестные компоненты RdDM аппарата. Показана ценность анализа данных соэкспрессии в качестве подхода, для выявления новых генов в RdDM пути.

С.К. Жармухамедов

### Различные роли белков FKF1, GIGANTEA, и ZEITLUPE в регулировании стабильности белка CONSTANS в фотопериодическом цветении *Arabidopsis*

Distinct roles of FKF1, GIGANTEA, and ZEITLUPE proteins in the regulation of CONSTANS stability in *Arabidopsis* photoperiodic flowering. Young Hun Song, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17672–17677.

Многие растения измеряют изменения продолжительности дня, чтобы синхронизировать время цветения с соответствующим сезоном для максимальной репродуктивности. В *Arabidopsis thaliana* чтобы вызвать цветение в условиях длинных дней требуется индукция гена *FLOWERING LOCUS T (FT)*. Стабильность белка *CONSTANS (CO)* зависит от продолжительности дня и имеет решающее значение для индукции экспрессии гена *FT*. Эта значимость связана с тем, что белок *CO*, непосредственно активирует транскрипцию гена *FT* в условиях длинного дня. Экспрессируемый этим геном белок *FLAVINBINDING, KELCH REPEAT, F-BOX1 (FKF1)* специфически связывается с белком *CO*, именно во второй половине длинных дней и стабилизирует его. Белок *GIGANTEA (GI)* стабилизирует белки *FKF1* и *ZTL*, образует комплекс с репрессорами гена *FT*, косвенно индуцирует транскрипцию *FT*. Белок *ZEITLUPE (ZTL)* действует как негативный регулятор фотопериодического цветения. Растение *ztl*-мутант начинает цветение в начале короткого дня, а избыточная экспрессия гена *ZTL* вызывает задержку цветения одновременно с резким снижением экспрессии гена *FT* в условиях длинного дня. Регулирование гена *CO* и экспрессии белка циркадными часами и светом имеет решающее значение для зависящей от продолжительности дня индукции гена *FT*. Однако, механизм этих процессов остается неизвестным. В статье авторы показали, что белки *GI* и *ZTL*, взаимодействующие с белком *FKF1* участвуют в регуляции стабильности белка *CO*. Показано, что белок *FKF1* образует комплекс (*Skp1/Cullin(CUL)/F-box*, содержащий гомолог S-фазной киназы 1 (*Skp1*), за счет взаимодействия с белками *Arabidopsis*: *Skp1*-гомологом 1 (*ASK1*), *ASK2* и *Cul1* и, главным образом, взаимодействия с белком *GI in vivo*. Показано, что белок *GI* взаимодействует с белком *CO* как непосредственно, так и опосредованно через белок *FKF1*. Неожиданно для авторов оказалось, что *gi*-мутация увеличивает уровни белка *CO* по утрам в условиях длинных дней. Установлено, что эта *GI*-зависимая дестабилизация белка *CO* аннулируется *fkf1*-мутацией. Эти результаты свидетельствуют, что существуют и другие факторы, оказавшиеся под влиянием обеих *gi*- и *fkf1*-мутаций, которые также контролируют стабильность белка *CO*. Авторы обнаружили, что белок *ZTL*, который взаимодействует с белками *GI* и *FKF1*, может быть одним из таких факторов. Белок *ZTL* также взаимодействует с белком *CO in vivo*. Показано, что профиль белка *CO* в *ztl* мутанте совпадает с таковым в *gi* мутанте. Это указывает на то, что активность белка *ZTL* также может быть изменена в *gi* мутанте. Авторы получили данные о наличии сбалансированного взаимодействия между белками *FKF1*, *GI* и *ZTL* которые антагонистически регулируют стабильность белка *CO* для точного контроля времени цветения.

С.К. Жармухамедов

## ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Биологические науки

### Модель генерации и взаимопревращения морфологии периферической эндоплазматической сети

A model for the generation and interconversion of ER morphologies. Tom Shemesh, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. E5243–E5251

Эндоплазматическая сеть (ЭС) является важнейшей мембранно-связанной органеллой во всех эукариотических клетках. До сих пор не понятно как формируются различные морфологические виды ЭС. Предыдущие работы выявили 2 мембранных белковых семейства, стабилизирующих высокую кривизну трубочек в поперечном сечении: ретикулоны и DP1 (deleted in polyposis 1)/Yop1p. Ранние теоретические модели могут объяснить, как образуются трубочки и мембранные пластины ЭС, а также их взаимопревращение. Однако эти модели не могут объяснить форму некоторых слоев, тип соединения между трубочками и мембранами, фенестрацию пластин, или структуру геликоидальных соединений между мембранами. Авторы данной статьи представляют новую теоретическую модель, которая объясняет образование и взаимопревращение всех известных морфологий ЭС. Она основана на двух типах белков, которые отвечают за создание прямых и обратных краев трубок и мембран ЭС (белки R- и S-типа). В качестве белков R-типа ученые взяли ретикулоны 4a/b, а в качестве S-типа — белки семейства Lunapark. Биологи выделили 4 основных вида биологических мембранных структур: трубочки, мембраны, фенестрированные пластинки и геликоидальные соединения между пластинками. Ученые доказали, что морфология мембраны ЭС зависит от сочетания двух величин: общей концентрации белков S- и R-типа ( $C_{tot}$ ) и доли белков S-типа в общей концентрации.  $C_{tot}$  определяет сумму длин всех трубочек и краев мембран в системе или общую длину всех краев. Рост  $C_{tot}$  приводит к тому, что мембрана с плоской поверхностью принимает трубчатую ограниченную форму. Изменение концентрации белка S-типа влияет на общую морфологию системы, меняя соотношение вогнутых и выпуклых краев. Исследователями также было доказано, что белок Lunapark является определяющим протеином для образования трехсторонних узлов в трубчатой сети: при повышении его концентрации число данных узлов возрастает, однако, при слишком высоком ее уровне трубочки напротив становятся неразветвленными. При слишком низкой концентрации этого белка трехсторонние узлы исчезают и трансформируются в большие пластины с множеством трубчатых соединений. Кроме того, авторами было установлено, что белки S- и R-типа играют совершенно различные роли в морфологическом развитии ЭС: R-тип отвечает за создание трубочек и внешних граней мембран, а S-тип генерирует трехсторонние узлы между трубочками, соединения между трубочками и мембранами, отверстия в мембранах и геликоидальные соединения между мембранами. Однако данная модель является весьма упрощенной и не учитывает множество факторов: влияние мембрано-содействующий белков; кинетические маршруты, благодаря которым формируются различные морфологии и т.д. Ученые отмечают, что в будущем данное направление требует дальнейших исследований.

Д.С. Пихновский

### Стресс актина в клеточном перепрограммировании

Actin stress in cell reprogramming. Jun Guo, Yuexiu Wang, Frederick Sachs, Fanjie Meng. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. E5252–E5261.

Клеточная механика играет важную роль в жизнеобеспечении клеток, в индукции ответа на разнообразные стрессы, в перепрограммировании стволовых клеток и дифференциации. Однако до последнего времени практически не было исследований по измерению действия, силы (force) специфических структурных белков. Используемые для определения силы белков датчики состоят из пары FRET (как правило, GFP/YFP), фланкированных двумя субъединицами исследуемого белка и соединенных белковым линкером, напоминая биологический аналог механической пружины. Все опубликованные ранее работы посвящены исследованию линейных белков. В представленной работе авторы впервые использовали этот метод для определения силы полимерного белка актина. Авторы сконструировали зонд для измерения силы актина, круговой чувствительный к перемене растяжения FRET (cpstFRET), в котором пара чувствительных элементов FRET была фланкирована двумя субъединицами актина. Полученную конструкцию авторы назвали «актин — cpstFRET — актин» (AcspA) и использовали ее для определения силы актина в живых клетках в реальном времени. Меченый актин эффективно экспрессировался в клетках HEK-293, клетках Мадина — Дарби почек собаки (MDCK), 3T3 и эпителиальных клетках аорты крупного рогатого скота. Жизнеспособность клеточных линий демонстрировала, что меченый актин не оказывает заметного эффекта на клеточную физиологию. Гистологическое распределение актина, меченного AcspA, было похоже на распределение актина, меченного GFP. Актин является основным составляющим клеточного кортекса. Внешние стимулы вызывают изменения в структурных белках, и для определения этого эффекта авторы подвергали клетки MDCK и HEK различным механическим воздействиям. В ходе этих экспериментов авторы продемонстрировали, что сила актина резко возрастает в ответ на прикосновение горячей пипетки или осмотический стресс. Кроме того, переместив клетки HEK-293 на полидиметилсилоксан, мягкий гидрофобный субстрат, авторы добились перепрограммирования этих клеток в полипотентные клетки, подобные стволовым. Авторы продемонстрировали, что полученные клетки отличаются от родительских увеличением силы актина. Пересев полученных перепрограммированных клеток обратно на стекло приводит к редифференциации и уменьшению силы актина. При попытке перепрограммировать подобным образом клетки MDCK авторы выяснили, что они нуждаются, в дополнении к мягкой гидрофобной подложке, в экспрессии гомолога онкогена вирусной крысиной саркомы Гарвея. Полученные клетки также отличались повышенной силой актина. Авторы также протестировали силу актина в стрессовых ситуациях, и выяснили, что изменения силы актина не всегда коррелировали с изменениями силы актина. Поскольку актин является основным структурным белком в клетках животных, понимание распределения его силы является центральным вопросом понимания физиологии животных клеток и многих адаптивных реакций, таких как индуцированная стрессом генная экспрессия. Разработанная авторами новая методика обеспечивает определение силы действия актина в широком диапазоне экспериментов в живых клетках.

Е.А. Кутукова

## ЕСТЕСТВЕННЫЕ И ТОЧНЫЕ НАУКИ · Компьютерные и информационные науки

### Нейрокомпьютерный интерфейс, основанный на движении глаз

Brain-machine interface for eye movements. Arnulf B. A. Graf, Richard A. Andersen. PNAS. Vol. 111. No 49. P. 17630–17635.

Нейрокомпьютерные интерфейсы успешно используются для предсказаний движений руки и захвата предметов рукой. Ряд исследований, проведенных с участием пациентов с тетраплегией (парализацией всех конечностей), а также с участием здоровых обезьян показали, что на основе нейронной активности, зарегистрированной в областях, связанных с движениями, можно понять намерения движений до того, как они совершены. Это дает возможность полностью парализованным пациентам использовать такие нейрокомпьютерные интерфейсы, чтобы контролировать работу внешних устройств (например, управлять искусственной рукой-манипулятором или курсором компьютера). Однако ранее не были описаны исследования, которые применяли бы нейрокомпьютерные интерфейсы к областям мозга, связанным с движениями глаз, т. е. такие интерфейсы, которые распознавали бы планируемые движения глаз. Это кажется удивительным, поскольку моторные и нейронные механизмы движений глаз очень хорошо исследованы и, возможно, являются более простыми, чем движения рук. Характерной чертой движений глаз является то, что они осуществляются очень быстро. Известно, что активность нейронов латеральной внутритеменной коры связана как с планированием движений глаз, так и с позиционированием глаз. Таким образом, латеральная внутритеменная кора является идеальным объектом для нейрокомпьютерного интерфейса, основанного на движе-

ях глаз. В данной работе производилась регистрация активности нейронных популяций латеральной внутритеменной коры у обезьян, поскольку известно, что данная структура является ключевой в процессах совершения саккадических движений глаз. Обезьяны были обучены фиксировать взгляд в центре экране, а затем совершать саккады в одну из восьми соседних точек. Место, куда было необходимо перевести взгляд, отмечалось сигналом, но перевод взгляда совершался после латентного периода, в который животные помнили, куда надо перевести взгляд. Оказалось, что на основании активности маленького ансамбля нейронов латеральной внутритеменной коры с помощью Байесовского вывода в реальном времени можно предсказывать планируемые движения глаз, при этом животные не совершали никаких движений глаз. Увеличение точности предсказаний (т. е. обучение) обнаруживалось на уровне нейронных ансамблей, особенно для трудных предсказаний. Популяционное обучение имело две компоненты: обновление параметров нейрокомпьютерного интерфейса, основанное на истории обучения, и изменение ответов отдельных нейронов. Полученные данные являются мощным доказательством того, что реакции нейронных ансамблей могут формироваться в зависимости от целевой функции, в данном случае от предсказательной точности нейрокомпьютерного интерфейса. Более того, намерения относительно движения глаз могут быть декодированы без реальных движений глаз у животного. Таким образом, с помощью такого интерфейса есть возможность контролировать местоположение курсора на экране компьютера. В этом смысле нейрокомпьютерный интерфейс на основе планирования движений глаз является весьма перспективным для тех парализованных пациентов, у которых нет возможности двигать даже глазами.

О.Е. Сварник



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

### Сверхпластичные нановолокнистые материалы зоны скольжения контролируют трение в сейсмогенном разломе

Superplastic nanofibrous slip zones control seismogenic fault friction. Berend A. Verberne, et al. Science. 2014. Vol 346. No 6215. P. 1342–1344.

Понимание внутренних механизмов контроля трения скольжения в тектонических нарушениях принципиально важно для объяснения и предсказания сейсмогенных сдвигов в зонах активных разломов. Центральная часть сейсмически активных разломов обычно представляет из себя узкую (от нескольких мм до нескольких см) зону скольжения, заполненную так называемой глиной трения (нанозернистой породой разлома). Субпараллельные края разломов на отдельных участках имеют характер гладких отполированных (зеркальных) поверхностей, которые могут быть индикаторами сейсмогенных подвижек в прошлом. Стенки таких участков, называемых зеркалами скольжения, вдоль которых и локализируются смещения в разломных зонах, покрыты тонкой пленкой нанозернистой породы. Изучая породу разлома из его центральной части (глину трения), а также морфологические особенности зеркал скольжения, можно представить себе, какой механизм приводит к снижению сопротивления и увеличению скорости скольжения в зоне сейсмогенных разломов, что важно для понимания процессов, приводящих к зарождению землетрясений. Авторами был экспериментально воспроизведен процесс образования разлома в кальците и изучено поведение материалов при деформациях прямого сдвига и низких скоростях скольжения ( $v = 10^{-6}$  м/с). Морфология поверхностей зеркал скольжения изучалась с помощью сканирующего электронного микроскопа (SEM) высокого разрешения. Также были изучены микро- и наноструктурные особенности глины трения из центральной части этого искусственного разлома. Было обнаружено, что она состоит из ультратонкозернистых пленок, сложенных линейно-ориентированными нановолокнами (от 10 до 100 мкм в длину и около 100 нм в ширину), расположенными субпараллельно направлению сдвига, заключенными в зернистую основную массу породы разлома, сложенную сферическими частицами — наногранулами диаметром около 100 нм в диаметре. Скорее всего, нановолокна образовались при соединении наногранул в цепочки. В зоне напряжения нановолокна проявляли все признаки сверхпластичной деформации, демонстрируя высокую эластичность даже при комнатных условиях (высокое локальное растяжение без образования утончения в месте разрыва). Изучая эти микроструктуры и деформации, в которых они участвовали, авторы пришли к выводу, что механизм, действующий в разломной зоне, хорошо согласуется с классической моделью суперпластичности Эшби — Веррала, а диффузный перенос массы в нанокристаллической глине трения из разлома в кальците происходит с достаточно быстрой скоростью для того, чтобы это механизм стал причиной сейсмогенеза. Известно, что нанофазные материалы характеризуются значительно большей скоростью диффузии и переноса массы, чем их более грубозернистые аналоги. Низкоскоростной эксперимент по изучению трения скольжения был проведен для понимания механизма возникновения сейсмогенеза в верхней части земной коры. Нанофизические механизмы деформаций, действующие на зеркальных поверхностях разломной зоны, могут содержать ключ к пониманию процесса возникновения скольжения в зоне сейсмического разлома.

В.В. Стрекопытов

### Изотопные ограничения морской и наземной эмиссии N<sub>2</sub>O в последний межледниковый период

Isotopic constraints on marine and terrestrial N<sub>2</sub>O emissions during the last deglaciation. Adrian Schilt, et al. Nature. 2014. Vol. 516. No 7530. P. 234–237.

Оксид азота (N<sub>2</sub>O) является важным парниковым газом, имеющим, помимо антропогенного, также морские и наземные источники эмиссии. Концентрация N<sub>2</sub>O в тропосфере в прошлом менялась существенно в связи с климатическими изменениями, обусловленными сменой ледниковых и межледниковых периодов и тысячелетними климатическими циклами. Тем не менее, до конца не понятно, как отвечали изменения морской и наземной эмиссии N<sub>2</sub>O на изменения природных условий. Разобраться в этом помогают изотопные исследования, т. к. для N<sub>2</sub>O морского и наземного происхождения характерен разный изотопный состав. N<sub>2</sub>O морского происхождения обогащен тяжелыми изотопами ( $\delta^{15}\text{N} = 4\text{--}12\text{‰}$ ,  $\delta^{18}\text{O} = 42\text{--}67\text{‰}$ ) по сравнению с N<sub>2</sub>O наземного происхождения ( $\delta^{15}\text{N} = 34\text{--}2\text{‰}$ ,  $\delta^{18}\text{O} = 20\text{--}43\text{‰}$ ). В работе анализируются содержания и изотопный состав азота и кислорода из воздушных пузырьков, запечатанных во льду ледника Тэйлор в Антарктиде 16–10 тыс. лет назад, в период последней дегляциации. На основе полученных данных, обработанных с помощью коробочной модели биогеохимического цикла N<sub>2</sub>O, авторы обнаружили, что в период последней дегляциации эмиссия N<sub>2</sub>O увеличилась на 30% по сравнению с последним ледниковым периодом. При этом, если брать оцениваемый период в целом, вклады морской и наземной составляющих эмиссии были примерно равными, т. е. оба источника действовали параллельно, хотя и без видимой связи друг с другом. В то же время, вариации в масштабах столетий определялись, прежде всего, интенсивностью наземного источника N<sub>2</sub>O, зависящей от глобальной распространенности растительного покрова, поверхностных процессов на суше, температуры и количества осадков. Увеличение морской продуктивности N<sub>2</sub>O, как правило, связано с гипоксией (низкая концентрация растворенного в воде кислорода), которая зависит от температуры и солености воды, круговорота органики в океане, доступности питательных веществ и океанской циркуляции. В частности, ослабление Атлантической меридиональной циркуляции (АМОС) ведет к сокращению морской продуктивности N<sub>2</sub>O в глобальном масштабе, особенно в обедненных кислородом регионах. Ослабление АМОС приводит к более высокой стратификации водной массы, накоплению N<sub>2</sub>O в океане, сокращению апвеллинга питательных веществ в эйфотическую зону, сокращению первичной продуктивности азота и росту приповерхностных концентраций кислорода. Результаты исследования позволяют лучше понять драйверы природной эмиссии N<sub>2</sub>O и подтверждают гипотезу о том, что современное увеличение N<sub>2</sub>O в атмосфере связано, скорее всего, с антропогенным фактором. Учитывая то, что существенный рост естественной эмиссии N<sub>2</sub>O отмечается в периоды потепления климата, и природная эмиссия будет еще добавляться к человеческому фактору, нас ожидает значительный рост концентраций N<sub>2</sub>O в атмосфере в ближайшие несколько столетий.

В.В. Стрекопытов

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

### Влияние разнообразия океанического фитопланктона на поглощение фосфатов

Impact of ocean phytoplankton diversity on phosphate uptake. Michael W. Lomas, Juan A. Bonachela, Simon A. Levin, Adam C. Martiny. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17540–17545.

До сих пор нет более или менее ясного представления о том, как вариации видового разнообразия микроорганизмов влияют на функционирование экосистем океана и на глобальные биогеохимические циклы элементов. Центральным биогеохимическим процессом в океане является поглощение микроорганизмами питательных веществ, прежде всего нитратов и неорганических фосфатов, т. к. именно этот процесс контролирует уровень фиксации  $\text{CO}_2$  во многих регионах Мирового океана. Тем не менее, наше знание процессов поглощения питательных веществ основывается лишь на изучении лабораторных культур или на валовых исследованиях, проводимых в природной среде. И все математические описания, составляющие ядро биогеохимических моделей, строятся на этих ограниченных данных. У нас очень мало данных о реальных объемах поглощения питательных веществ различными популяциями природного фитопланктона. Поводом для сомнений в верности лабораторных наблюдений служит хотя бы тот факт, что размеры планктона из тропических зон океана примерно в 4 раза больше выращенных в лабораторных условиях аналогов. Используя современные аналитические методы, авторы провели *in situ* всеобъемлющие количественные исследования способности к поглощению питательных веществ у 4 наиболее распространенных групп фитопланктона — *Prochlorococcus*, *Synechococcus*, мелких эукариотов

(<20 мкм) и *Trichodesmium* (один из активных фиксаторов азота). Для каждой из этих групп отдельно, а также для всего сообщества фитопланктона крайне обедненной фосфатами зап. части Северной Атлантики анализировались способность поглощать фосфаты и характер размерного распределения клеток. Задачей исследования было выяснить, влияет ли видовое разнообразие фитопланктона в регионе на уровень поглощения фосфатов. Результаты показали, что потенциал поглощения фосфатов отдельными популяциями фитопланктона хорошо описывается единой для всех классической функцией поглощения, главными параметрами которой являются максимальный темп поглощения ( $V_{\max}$ ), концентрация полунасыщения ( $K_s$ ) и отношение этих двух параметров, названное питательным родством ( $\alpha$ ). Однако, на адаптивном уровне были зафиксированы значительные различия в поглощающей способности различных групп фитопланктона в зависимости от размера клеток и достаточного наличия питательных веществ в среде. На основе анализа эко-эволюционной модели, а также прямых наблюдений *in situ* характера поглощения фосфатов в регионе подтвердилась гипотеза о том, что различия в потреблении фосфатов разными группами фитопланктона ведут к возникновению неизвестной ранее взаимозависимости между концентрациями фосфатов в океанической среде и их поглощением микроорганизмами. Проведенные исследования заложили прочную эмпирическую основу для понимания и описания процесса ассимиляции питательных веществ в условиях их ограниченного присутствия в океанической среде. Результаты показывают, что микробиологическое разнообразие организмов (выше клеточного уровня) важно для понимания глобального геохимического цикла питательных веществ.

В.В. Стрекопытов

# МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

## Соматическая мутация в некодирующем элементе приводит к образованию онкогенного суперэнхансера

An oncogenic super-enhancer formed through somatic mutation of a noncoding intergenic element. Marc R. Mansour, et al. Science. 2014. Vol. 346. No 6215. P. 1373–1377.

Механизм моноаллельной экспрессии онкогенов в раковых клетках может включать транслокацию хромосом, изменения в уровне метилирования промоторных участков, делеции внутри хромосомных участков и др. Хорошо изученным примером таких делеций является *TAL1<sup>d</sup>*, представляющий собой делецию протяженностью в 80 тыс. пар оснований в хромосомном участке 1p33, обнаруживаемую примерно у 25% больных с острой Т-клеточной лимфобластической лейкемией (Т-ALL, T cell acute lymphoblastic leukemia). Эта делеция приводит к гиперэкспрессии онкогена *TAL1*, кодирующего фактор транскрипции, содержащий мотив вторичной структуры по типу спираль-петля-спираль, опосредованной внедрением кодирующей последовательности *TAL1* в регуляторные элементы повсеместно экспрессируемого гена *STIL* (SCL-interrupting locus). При определенных формах рака экспрессия критических для развития заболевания онкогенов осуществляется большими регуляторными элементами, называемыми суперусилителями, которые рекрутируют большинство элементов аппарата транскрипции клетки и характеризуются экстенсивным ацетилизацией остатка лизина Lys27 в гистоне 3 (H3K27ac). Ранее авторами настоящего исследования было показано, что в клетках линии Jurkat значительная часть Т-ALL демонстрирует моноаллельную гиперэкспрессию *TAL1*, однако не содержит ни *TAL1<sup>d</sup>*, ни какой-нибудь другой хромосомной аномалии в этом локусе. Авторами было сделано предположение о том, что моноаллельную гиперэкспрессию *TAL1* могло вызвать повреждение в регуляторных последовательностях. В настоящей работе авторами обнаружено, что у части больных с острой Т-клеточной лимфобластической лейкемией наблюдаются гетерозиготные соматические мутации. Они заключаются во внедрении в определенный некодирующий участок структурного мотива, связывающего известный регулятор процесса гематопоза, а именно, фактор транскрипции MYB, что приводит к образованию суперэнхансера, расположенного перед онкогеном. Связывание белка MYB на этом участке приводит к рекрутированию его взаимодействующего партнера, белка CBP (CREB-binding protein) для связывания с ацетилазой остатка лизина 27 в гистоне 3. В этом процессе участвуют также ключевые компоненты основного лейкогенного транскрипционного комплекса, такие как RUNX1, GATA-3 и TAL1. Было также показано, что большинство эндогенных суперэнхансеров (727 из 818), обнаруживаемых в Т-ALL клетках, заняты белками MYB и CBP, что указывает на центральную роль MYB в инициации суперэнхансеров. В целом, в данной работе авторами было показано, что соматические мутации в некодирующих участках, расположенных вне генов, могут привести к связыванию факторов транскрипции, таких как MYB, что, в свою очередь, может вызвать образование суперэнхансеров, принимающих участие в гиперэкспрессии онкогенов, приводящей к злокачественной трансформации клеток. Суперэнхансеры, специфичные для опухолей, могут быть использованы в качестве молекулярных мишеней для разработки лекарств, нацеленных на эти мишени.

И.М. Мохосоев

## Связанные с изменением рациона питания модуляции микробиома влияют на аутовоспалительные заболевания

Dietary modulation of the microbiome affects autoinflammatory disease. John R. Lukens, et al. Nature. 2014. Vol. 516. No 7530. P. 246–249.

В последние 30 лет значительно возросло число случаев хронических воспалительных заболеваний. Это может быть связано с меняющимся рационом питания. Но какова эта связь — до сих пор не выяснено. В линии мышей *Pstpip2<sup>cmo</sup>*, у которых имеется гомозиготная миссенс-мутация Leu98Pro (замена остатка лейцина 98 на пролин) в белке, взаимодействующем с пролин-серин-треониновой фосфатазой 2 (PSTPIP2), входящем в семейство белков *Pombe* Cdc15, спонтанно развивается остеомиелит, который напоминает хронический рецидивный остеомиелит, развивающийся у людей. Недавно было показано, что интерлейкин 1β (IL-1β) играет ключевую роль в развитии остеомиелита, однако делеции компонентов инфламмосомы, таких как каспаза 1 и NLRP3 не приводили к спасению мышей линии *Pstpip2<sup>cmo</sup>* от этого воспалительного заболевания. Таким образом, остается открытым вопрос о механизмах, контролирующих образование IL-1β у мышей линии *Pstpip2<sup>cmo</sup>*. Также неизвестны факторы окружающей среды, которые способствуют зависимой от IL-1β эрозии кости. В настоящей работе авторы показали, что микробиота кишечника у подверженных остеомиелиту мышей линии *Pstpip2<sup>cmo</sup>* характеризуется усиленным ростом *Prevotella*. Было обнаружено, что мыши этой линии, которые принимали пищу, богатую жирами и холестерином, сохраняли нормальный вес и при этом не были подвержены воспалительному заболеванию костей и эрозии костей. Обусловленная пищевым рационом защита против остеомиелита также сопровождалась значительным снижением содержания *Prevotella* в кишечнике и существенным понижением экспрессии IL-1β в нейтрофилах. Более того, было обнаружено, что экспрессия про-IL-1β понижается при введении мышам линии *Pstpip2<sup>cmo</sup>* антибиотиков. Также низкий уровень экспрессии этого белка характерен для мышей дикого типа, содержащихся в стерильных условиях. Авторы показали, что совместное удаление каспазы 1 и каспазы 8 вызывает резистентность к зависимому от IL-1β воспалительному поражению кости, в то время как устранение каспазы или эластазы и протеиназы 3 не приводило к предотвращению воспалительного заболевания. В целом, в настоящей работе авторы показали, что изменения в микробиоме кишечника, связанные с пищевым рационом, являются ключевым фактором, регулирующим созревание интерлейкина IL-1β при участии инфламмосомы и каспазы 8 и развитие остеомиелита у мышей линии *Pstpip2<sup>cmo</sup>*.

И.М. Мохосоев

# МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

## Полногеномная характеристика путей развития плюрипотентности

Genome-wide characterization of the routes to pluripotency. Samer M. I. Hussein, et al. Nature. 2014. Vol. 516. No 7530. P.198–224.

Возможность перепрограммирования соматических клеток в плюрипотентное состояние ставит под сомнение многие предположения о специализации клеток. При этом на молекулярном уровне процесс перепрограммирования охарактеризован не полностью. В данном исследовании были получены транскриптомные, эпигеномные и протеомные данные, характеризующие переход вторичных мышечных эмбриональных фибробластов к индуцируемой плюрипотентности. Для этого в клетки встраивали запускаемую доксициклином трансгенную систему вторичного перепрограммирования. Добавление доксициклина к клеткам вызывало резкие изменения во всех аспектах их жизнедеятельности, и лишь паттерн метилирования ДНК изменялся с некоторой задержкой. Анализ экспрессии генов по методу Шеннона показал, что в ранней фазе перепрограммирования (на 2 день обработки доксициклином в высокой концентрации) была усилена экспрессия генов молекул адгезии и развития эктодермы; в средней фазе (5–8 день) — также генов молекул адгезии и иммунного ответа. Ранние события транскрипции, запускаемые при повышенной экспрессии генов транскрипционных факторов перепрограммирования, связаны со значительной утратой метки H3K27me3 (триметилирования лизина 27 в гистоне H3), достигающей пика на 8 день и приводящей к переходу хроматина в открытое (активное) состояние. Некоторые гены, характерные для эмбриональных стволовых клеток, потеряли эту метку, но приобрели триметилирование лизина 4 в H3, также приводящее к активации хроматина. Поддержание на высоком уровне экспрессии введенных генов перепрограммирования (трансгенов) приводит к восстановлению триметилирования и стабильному плюрипотентному состоянию, т. е. к образованию так называемых плюрипотентных клеток F-класса. В полученных клетках повышена экспрессия генов, определяющих судьбу клеток и отвечающих за развитие нейронов, что говорит об их способности к дифференцировке. Кроме того, в клетках F-класса сохранялась повышенная экспрессия генов плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток (*Nanog*, *Sall4* и др.), что говорит о сходстве этих двух состояний плюрипотентности. Подавление трансгенов за счет снижения концентрации доксициклина после 8 дней обработки приводит к метилированию ДНК и состоянию хроматина, свойственным эмбриональным стволовым клеткам. При этом многие H3K4me3<sup>+</sup>-гены в течение первых 5 дней утратили эту метку. Метилирование лизина 4 в условиях низкой концентрации доксициклина отрицательно коррелировало с уровнем метилирования ДНК. Вероятно, переход к состоянию плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток связан с преодолением барьера метилирования ДНК, тогда как условием перехода в состояние клеток F-класса является восстановление метки H3K27. Таким образом, перепрограммирование клеток может осуществляться по трансгензависимому пути с переходом в клетки F-класса или по трансгеннезависимому пути с переходом в эмбриональные стволовые клетки. Результаты данного исследования объясняют молекулярный механизм перепрограммирования клеток. Полученные протеомные, транскриптомные и эпигеномные данные доступны на портале Project Grandiose.

А.Л. Братцева

## Различные пути перепрограммирования приводят к различным состояниям стволовых клеток

Divergent reprogramming routes lead to alternative stem-cell states. Peter D. Tonge, et al. Nature. 2014. Vol. 516. No 7530. P.192–206.

Плюрипотентность — способность клеток при дифференцировке давать производные всех трех зародышевых слоев: эктодермы, мезодермы и энтодермы. Плюрипотентные клетки могут быть получены из эмбриональных стволовых клеток или из соматических клеток путем перепрограммирования. Плюрипотентность соматических клеток можно индуцировать, запустив экспрессию необходимых транскрипционных факторов. Впрочем, окончательно не выяснено, какие классы плюрипотентных клеток существуют, и какой спектр фенотипов можно получить в результате перепрограммирования. В данном исследовании были рассмотрены основные типы получаемых путем перепрограммирования клеток. Для этого в эмбриональные фибробласты мышей встраивали запускаемую доксициклином трансгенную систему перепрограммирования. При экспрессии трансгенов — компонентов этой системы — клетки формировали два типа колоний: компактные (так называемые клетки C-класса) и ворсистые (клетки F-класса). Гены перепрограммирования *Oct4*, *Sox2*, *Klf4* и *c-Myc* во всех полученных линиях экспрессировались во много раз интенсивнее, чем в эмбриональных стволовых клетках. Однако содержание белков *Nanog* и эндогенного *Oct4* в клетках F-класса соответствовало уровню эмбриональных стволовых клеток, хотя соответствующую морфологию они не приобретали. В них также было снижено содержание E-кадгерина, что, вероятно, обусловило их ослабленную межклеточную адгезию и ворсистость колоний, но в них активно экспрессировались гены, регулирующие дифференцировку, в частности, гены гомеобоксных белков *En2* и *Nkx2.3* и фактора *Ngn3*. Клетки F-класса обладали рядом преимуществ при культивировании: их транскриптом проявил стабильность, они выдерживали более 40 пассажей. Самообновление популяции не зависело от метаболических путей LIF и JAK; клетки F-класса пролиферировали так быстро, что при культивировании с эмбриональными стволовыми клетками при изначальном соотношении 1:99 через 3 пассажа уже составляли большинство. Однако все эти свойства были обусловлены экспрессией трансгенов: в отсутствие доксициклина вся популяция дифференцировалась в течение 48 ч: в бессывороточной среде — в различные типы нейронов, в присутствии сыворотки — в клетки, характерные для мезодермы и энтодермы. Тератомы, полученные из клеток F-класса были идентичны полученным из эмбриональных стволовых клеток и содержали дифференцированные ткани всех трех зародышевых слоев. Переход эмбриональных фибробластов мышей в плюрипотентные клетки F-класса связан с уникальными эпигенетическими модификациями. При ингибировании гистондеацетилазы HDAC клетки F-класса утрачивали свои характерные свойства и приобретали морфологию и транскриптом эмбриональных стволовых клеток. Уровень экспрессии 72 из 86 генов, экспрессировавшихся в 5 раз более интенсивно, чем в эмбриональных стволовых клетках, коррелировал хотя бы с одной из трех эпигенетических меток: активирующим хроматин триметилированием лизина 4 в гистоне H3, супрессивным триметилированием лизина 27 в H3 или метилированием CpG-островков. Результаты исследования говорят о разнообразии уникальных состояний плюрипотентных клеток.

А.Л. Братцева



# МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

## Индукция остеогенеза хрящевым матриксом, девитализированным индуцируемым апоптозом

Osteoinductivity of engineered cartilaginous templates devitalized by inducible apoptosis. Paul E. Bourguine, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17426–17431.

В настоящее время существует множество доказательств роли внеклеточного матрикса в индукции регенерации органов и тканей, причем в большинстве подходов регенеративной медицины используется именно матрикс из полностью развитых тканей. В данном исследовании описан метод разработки инженерного матрикса, способного активировать эндогенные программы регенерации за счет воспроизведения процессов, специфичных для формирования той или иной ткани в эмбриональном развитии. Была исследована способность девитализированного (т. е. лишённого живых клеток) матрикса гипертрофического хряща к индукции остеогенеза. Внеклеточный матрикс был получен путем индукции хондрогенеза мезенхимных стромальных клеток человека содержанием в специальной среде. Затем он был девитализирован с помощью генетически запускаемой димеризации модифицированной каспазы 9, приводящей к апоптозу. Систему вводили в мезенхимные стволовые клетки путем ретровирусной трансдукции. Гистологические окрашивания и анализ экспрессии генов показали, что внедрение системы индуцируемого апоптоза не нарушает экспрессию генов хондрогенеза и гипертрофии. Поточная цитометрия и окрашивание по аннексину V, выделяемому на поверхность клетки при апоптозе, выявили гибель 93% клеток при индукции системы. Гистологический анализ также выявил фрагментацию ядра и изменения морфологии клеток, подтверждающие их гибель. При этом с помощью технологии Lumipex в девитализированных образцах удалось выявить сохранение факторов воспаления, ангиогенеза и перестройки ткани в том же количестве, что и в недевитализированном матриксе. При имплантации мышам полученный матрикс успешно перестраивался и за 12 недель *de novo* формировал костную ткань, содержащую, в числе прочих компонентов, костный мозг. Однако по данным компьютеризированной томографии содержание минералов в этом имплантате было ниже, чем в имплантате на основе недевитализированного матрикса. Характерные внутрикостные трабекулы в девитализированных имплантатах не формировались, но конфокальная микроскопия выявила нормальное развитие CD31<sup>+</sup>-сосудов, стабилизируемых перицитами. По краям зон костного мозга были обнаружены остеообласты и остеокласты, экспрессирующие характерные маркеры. При этом клеток человека обнаружено не было. Следовательно, формирование кости осуществлялось за счет клеток хозяина. Примечательно, что при девитализации с помощью трех стандартных циклов заморозки и разморозки с последующей инкубацией в гипертоническом растворе имплантат сохранял кальцифицированную оболочку и остатки девитализированного хряща, но кость, сосуды и костный мозг не формировались. Этот метод девитализации вызвал существенную потерю гликозаминогликанов (22%), минералов (35%) и матриксных цитокинов, необходимых для процессов воспаления, перестройки и роста сосудов. Было утрачено 57% фактора ангиогенеза VEGF $\alpha$  и 62% металлопротеиназы 13. Белок морфогенеза костей BMP-2 детектировать не удалось. Результаты исследования говорят о регенеративном потенциале внеклеточных матриксов и их способности к привлечению клеток и управлению их поведением для формирования той или иной ткани.

А.Л. Братцева

## Фосфорилирование IRF5 по остатку Ser462, катализируемое протеинкиназой IKK $\beta$ , индуцирует его димеризацию и ядерную транслокацию в миелоидных клетках

Protein kinase IKK $\beta$ -catalyzed phosphorylation of IRF5 at Ser462 induces its dimerization and nuclear translocation in myeloid cells. Marta Lopez-Pelaez, et al. 2014. PNAS. Vol. 111. No 49. P. 17432–17437.

Транскрипционный IFN-регулирующий фактор 5 (IRF5) играет ключевую роль в продукции провоспалительных цитокинов. В клетках мыши, которые не экспрессируют IRF5, очень сильно снижена продукция интерлейкина 12 (IL-12), IL-6 и фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), а также интерферона  $\beta$  (IFN $\beta$ ) в ответ на действие лигандов, активирующих толл-подобные рецепторы 3 (TLR3), TLR4, TLR5 и TLR9 и вирусную инфекцию. IRF5 присутствует в цитозоле, но накапливается в ядре в ответ на вирусную инфекцию или действие R848 (агониста TLR7/TLR8). Авторы установили, что нокаун IRF5 в клетках Gen2.2 при помощи siPHK прекращает синтез мРНК IFN $\beta$  и секрецию IFN $\beta$  в ответ на стимулирование TLR7 его агонистом, CL097. Напротив, экспрессия IFN $\alpha$  стимулируется в аналогичных условиях. Для выяснения механизма стимуляции выработки IFN $\beta$  фактором IRF5 авторы изучили все белки, которые фосфорилируются в клетках Gen2.2 в ответ на стимулирование CL097 при помощи SILAC (stable isotope labeling by amino acids in cell culture) и масс-спектропии. Во всех экспериментах был обнаружен фосфорилированный пептид, соответствующий позициям 459–467 IRF5. Стимуляция клеток Gen2.2 CL097 увеличивала фосфорилирование Ser462 в 27 раз. Авторы обнаружили, что CL097-индуцированное фосфорилирование IRF5 прекращается в присутствии BI605906 (наиболее специфичным ингибитором киназы IKK $\beta$ ). Очищенная IKK $\beta$  и (в меньшей степени) IKK $\alpha$  фосфорилировали Ser462 IRF5 *in vitro*. Котрансфекция FLAG-IRF5 и HA-IKK $\beta$  индуцировала фосфорилирование Ser462 и димеризацию IRF5; причем, фосфорилирован всегда только IRF5 в составе димера. Таким образом, фосфорилирование может быть необходимо для димеризации. Авторы также установили, что химерный белок IRF5-GFP начинает накапливаться в ядре через 30 минут после стимулирования клеток Gen2.2 CL097. В то же время, этого не происходило в случае мутанта IRF5[Ser462Ala]. Вероятно, фосфорилирование Ser462 необходимо для ядерной локализации IRF5. CL097-индуцированная ядерная транслокация IRF5 в клетках Gen2.2 была невозможна в присутствии двух ингибиторов IKK $\beta$  (BI605906 и PS1145), а также NG-25, который ингибирует TAK1 (активатор киназы IKK $\beta$ ). Аналогичным образом, R848 стимулирует ядерную транслокацию IRF5-GFP дикого типа, но не IRF5[Ser462Ala]-GFP в клетках мыши RAW264.7, и этот процесс подавляется соединениями BI605906, PS1145 и NG-25. Таким образом, фосфорилирование Ser462 фактора IRF5 осуществляется протеинкиназой IKK $\beta$ , и оно необходимо для димеризации и ядерной локализации IRF5.

А.П. Корепанов

# МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

## Белок IKK $\beta$ является протеинкиназой, которая фосфорилирует IRF5 и вызывает воспаление

IKK $\beta$  is an IRF5 kinase that instigates inflammation. Junyao Ren, Xiang Chen, Zhijian J. Chen. 2014. PNAS. Vol. 111. No 49. P. 17438–17443.

Семейство транскрипционных факторов IRF (interferon regulatory factors) играет важную роль в иммунном ответе и воспалении. Одним из наименее изученных IRF в настоящее время является IRF5. Он играет важную роль в индукции провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) и интерлейкин 6 (IL-6), в ответ на действие лигандов толл-подобных рецепторов (TLR), например липополисахаридов (LPS). IRF5 состоит из ДНК-связывающего домена (DBD), IRF-ассоциированного домена (IAD) и серин-богатой области (SRR) на С-конце. SRR подвергается фосфорилированию в ответ на стимуляцию TLR или вирусную инфекцию, но физиологические сайты фосфорилирования и киназа, отвечающая за фосфорилирование IRF5, до сих пор не найдены. Авторы показали, что IRF5 стимулирует индукцию хемокина 10 (с CXС-мотивом, CXCL10), интерлейкина 12, а также интерферона  $\beta$  (IFN- $\beta$ ) и ряда IFN-стимулируемых генов. Причем, индукция TNF- $\alpha$  в ответ на присутствие в цитозоле PHK оказалась полностью IRF5-зависимой, тогда как для индукции IFN- $\beta$  IRF5 не обязателен, но значительно стимулирует этот процесс. Оказалось, что активация IRF5 приводит к его димеризации. Суперпродукция белка IKK $\beta$  индуцирует экспрессию TNF- $\alpha$ , но лишь незначительно увеличивает продукцию IFN- $\beta$ . Выяснилось, что именно киназа IKK $\beta$  стимулирует образование димеров IRF5 IKK $\beta$  как в клетках, так и в системе *in vitro*. Таким образом, IKK $\beta$  может отвечать за LPS-индуцированную димеризацию IRF5. Киназа IKK $\beta$  фосфорилирует остатки серина IRF5 мыши (mIRF5) в позициях 430, 434, 436 и 445. Мутация в mIRF5 S445A полностью ингибировала димеризацию, а мутация S434A — лишь частично, замены двух других сериновых остатков влияния не оказывали. Кроме того, только замена S445A (но не других трех серинов) предотвращает индукцию TNF- $\alpha$ . Также, замена S445A приводит к неспособности mIRF5 стимулировать синтез IL-12 в ответ на стимуляцию LPS. Для дальнейшего исследования фосфорилирования IRF5 в клетках были получены антитела, которые узнают IRF5, фосфорилированный по остатку S445 (антитела pIRF5). Клетки, экспрессирующие IRF5 дикого типа и S445A, инфицировали вирусом Сендай. Оказалось, что только IRF5 дикого типа, но не S445A фосфорилируется в инфицированных клетках. Фосфорилирование остатка S445 mIRF5 прекращается в присутствии IKK-специфического ингибитора TPСA1. Таким образом, полученные результаты показывают, что именно IKK $\beta$  фосфорилирует mIRF5 по остатку S445 белка, и это фосфорилирование важно для индукции провоспалительных цитокинов.

А.П. Корепанов

## Катехоламины индуцируют липолиз, приводящий к диссоциации комплекса mTOR и ингибированию поглощения глюкозы адипоцитами

Catecholamine-induced lipolysis causes mTOR complex dissociation and inhibits glucose uptake in adipocytes. Garrett R. Mullins, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 117450–17455.

Адипозная (жировая) ткань поддерживает метаболический гомеостаз при голодании и в условиях обеспечения пищей. При поступлении пищевых веществ в обильных количествах происходит высвобождение инсулина поджелудочной железой. Этот гормон стимулирует анаболические сигнальные пути и вызывает поглощение и накопление глюкозы и жирных кислот в адипозной ткани. В адипоцитах инсулин воздействует на PI3K — Akt — mTOR сигнальный путь. Ключевым компонентом этой сигнальной сети является mTOR (mammalian target of rapamycin), который представляет собой высококонсервативную серин-треониновую киназу, функционирующую в составе двух мультибелковых комплексов, mTORC1 и mTORC2. Было установлено, что комплекс mTORC2 фосфорилирует остаток серина (Ser473) в белке Akt, вызывая его активацию. Последующие процессы приводят к поглощению глюкозы в ответ на стимуляцию инсулином. Во время голодания или стресса также происходит высвобождение катехоламинов симпатической нервной системой и активация процесса липолиза. Эти события запускаются стимуляцией  $\beta$ -адренергического рецептора на адипоцитах, которая приводит к повышению уровня цАМФ и активации протеинкиназы А (PKA), которая, в свою очередь, инициирует липолиз через прямое фосфорилирование гормон-чувствительной липазы HSL и перилипина и непрямого активации липазы адипозных триглицеридов ATGL. Несмотря на то, что уже на протяжении долгого времени принято считать, что стимуляция  $\beta$ -адренергического рецептора приводит к ингибированию поглощения глюкозы адипоцитами, механизм этого процесса до сих пор остается невыясненным. В настоящей работе авторы показали, что липолиз ингибирует стимулируемое инсулином поглощение глюкозы адипоцитами. Также авторами было показано, что липолиз приводит к подавлению процесса поглощения глюкозы через диссоциацию белковых комплексов mTORC1 и mTORC2, что вызывает ингибирование стимулируемой инсулином активности белка Akt. Кроме того, в данной работе было показано, что продукты липолиза могут вызвать диссоциацию комплекса mTOR и ингибирование его активности в условиях *in vitro*. В результате проведенной работы авторы выявили ранее неизвестный механизм внутриклеточного сигналинга, с помощью которого липолиз приводит к блокированию PI3K — Akt — mTOR сигнального пути и снижению поглощения глюкозы адипоцитами. По мнению авторов данной работы, предлагаемый ими механизм регуляции mTOR-опосредованного сигнального пути (в результате диссоциации комплекса), возможно, вносит вклад в развитие гипергликемии и резистентности к инсулину в условиях активного липолиза, как, например, при сильном стрессе или ожирении, соответственно. По мнению авторов, особый интерес вызывает рассмотрение роли липолиза и ингибирования mTOR-опосредованного сигнального пути в жировой ткани в развитие резистентности к инсулину, наблюдаемой при ожирении. Результаты данной работы могут быть использованы для разработки новых подходов к лечению гипергликемии.

И.М. Мохосоев

# МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

## Исследование механизма терминации синтеза цепи ДНК ганцикловиром с использованием мутантных клеток с пониженной экзонуклеазной активностью вирусной ДНК-полимеразы

Mechanism of ganciclovir-induced chain termination revealed by resistant viral polymerase mutants with reduced exonuclease activity. Han Chen, G. Peter Beardsley, Donald M. Coen. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17462–17467.

Многие противовирусные и противораковые лекарства являются синтетическими аналогами нуклеозидов, нацеленных на молекулярные мишени, в качестве которых выступают ДНК-полимеразы. Результатом действия этих аналогов нуклеозидов является остановка процесса синтеза цепи ДНК во время процесса репликации. Их открытие и широкое применение в медицине пришлось на последние десятилетия прошлого века. Эти химические соединения подвергаются фосфорилированию внутри клеток с образованием трифосфатов — производных, которые имитируют природные нуклеотиды и ингибируют внутриклеточные полимеразы, таким образом, нарушая процесс репликации молекулы ДНК. Во многих случаях происходит встраивание синтетического аналога в синтезируемую цепь ДНК. В связи с тем, что, как правило, аналоги нуклеозидов не содержат структурного эквивалента 3'-гидроксильной группы, в результате происходит обрыв синтезируемой цепи ДНК. Ганцикловир (GCV, ganciclovir) входит в состав первой линии терапевтических нуклеозидных аналогов, которые нашли применение в лечении заболеваний, вызываемых цитомегаловирусом человека (HCMV). Особенностью этого нуклеозидного аналога является его способность вызывать терминацию синтеза цепи ДНК, несмотря на наличие эквивалента 3'-гидроксильной группы. После встраивания ганцикловира и дополнительного нуклеотида в растущую цепь ДНК, ДНК-полимераза цитомегаловируса человека прекращает синтез ДНК. В результате наблюдается характерная для ганцикловира картина в виде множества коротких цепей ДНК в инфицированных клетках. При исследовании действия лекарства на клетки, инфицированные цитомегаловирусом, были выявлены мутации в цитомегаловирусе, которые вызывают резистентность вируса к действию ганцикловира. Оказалось, что резистентность к действию лекарства обусловлена заменами в 3'-5' экзонуклеазном домене каталитической субъединицы вирусной ДНК-полимеразы. Для выявления механизма появления резистентности цитомегаловируса к действию ганцикловира, авторы в настоящей работе получили препараты ДНК-полимеразы дикого типа и трех мутантных форм этого фермента. В результате проведенных исследований было показано, что как ДНК-полимераза дикого типа, так и мутантные формы ДНК-полимеразы, у которых нарушена экзонуклеазная активность, встраивают молекулу ганцикловира в молекулу ДНК и продолжают синтез новой цепи ДНК. ДНК-полимеразы отличались друг от друга тем, что ДНК-полимераза дикого типа вырезала нуклеотиды, расположенные на две позиции ниже встроенного ганцикловира, в то время как мутантные формы этого фермента не могли осуществить вырезание нуклеотидов, тем самым разрешая удлинение цепи ДНК. В целом, в данной работе авторы представили новый механизм противовирусного действия ганцикловира и возникновения резистентности к действию этого лекарства. Авторы полагают, что дефект вырезания нуклеотидов может представлять общий механизм резистентности к различным противовирусным и противораковым нуклеозидным аналогам.

И.М. Мохосоев

## Структурные особенности деградации волокон коллагена с участием катепсина К

Structural basis of collagen fiber degradation by cathepsin K. Adeleke H. Aguda et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17474–17479.

Фибриллярные коллагены составляют 90% органической матрицы кости, а при заболеваниях, таких как остеопороз, подвергаются структурной перестройке и деградации. Катепсин К является цистеиновой протеазой — одной из главных составляющих, которая способствует физиологическому разрушению кости. Среди 11 известных цистеиновых катепсинов, только катепсин К способен выполнять гидролазную функцию находясь в форме спирального триплета. Однако его чрезмерная активность в организме человека связана с остеопорозом, артритом и некоторыми видами рака костей. Несмотря на критическую роль в строении кости, механизм расщепления коллагеновых волокон с помощью катепсина до сих пор оставался невыясненным. В настоящей работе показано, что распад фибриллярного коллагена требует присутствия димера катепсина К, связанного на поверхности волокон коллагена гликозаминогликанами. Структурные модификации протеазного сайта димеризации или удаление гликозаминогликанов специфично блокируют распад коллагена. Катепсин группируется в удлиненные С-образные димеры, которые выступают в качестве коллаген-связывающих интерфейсов, в то время как гликозаминогликаны способствуют этому связыванию. С помощью рентгеновской кристаллографии, направленного мутагенеза, молекулярного моделирования и электронной микроскопии была определена уникальная структура димера катепсина К, ранее не известных гликозаминогликанов и специфического сайта связывания коллагеновых волокон, что в совокупности позволяет выстроить предполагаемый механизм действия этого фермента. Мутации на этих сайтах также, как и повреждение белок-белкового интерфейса, полностью подавляет деградацию коллагеновых волокон, при этом не затрагивая никаких других процессов. С помощью сканирующей электронной микроскопии было выяснено, что специфическому связыванию катепсина К в области разрыва волокон предшествует расщепление на N- и С-концах тропоколлагеновой молекулы. Анализ продуктов распада волокон методом Эдмана помог обнаружить эти первоначальные сайты расщепления. Предполагается, что одна молекула катепсина К связывается с коллагеновыми гликозаминогликанами в области разрыва и использует вторую молекулу протеазы, которая помогает обеспечить развертывание тройной спирали. Удаление коллаген-связанных гликозаминогликанов предотвращает катепсиновое связывание и последующий гидролиз волокон. Предложенный в работе механизм деградации коллагеновых волокон схематично описан в три этапа: (I) связывание мономеров катепсина К гликозаминогликанами; (II) введение второй молекулы катепсина и образование димера на краях фибрилл; (III) расщепление на N- и С-концах молекул тропоколлагена и их освобождение от фибрилл. Эти тропоколлагеновые фрагменты впоследствии дополнительно разрушаются катепсином. Недавние исследования подтвердили предположение о том, что дефицит катепсина К у мышей вызывает серьезную когнитивную дисфункцию. В свете этих результатов вышеописанный подход имеет преимущество над такими методами ингибирования активного сайта катепсина К, как терапевтическое блокирование гидролиза неколлагеновых субстратов, которое может привести к неблагоприятным побочным эффектам.

К.С. Дотолева

# МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

## Неполноценная активность тРНК-синтетазы является причиной возникновения кардиопротеинопатии

Deficiencies in tRNA synthetase editing activity cause cardioproteinopathy. Ye Liu, Jakob S. Satz, My-Nuong Vo, Leslie A. Nangle, Paul Schimmel, Susan L. Ackerman. PNAS. Vol. 111. No 49. P. 17570–17575.

Белки являются основными строительными блоками и важнейшими сигнальными молекулами клетки и процессы их синтеза и распада должны происходить особо точно. Неправильное сворачивание белков в ходе протеостаза является отличительной особенностью сердечных заболеваний, таких как кардиомиопатия и системный амилоидоз. Возникновение таких структур связано с нарушениями точности трансляции. Известно, что это нарушение может вызывать нейродегенерацию, но не много известно о том, какие последствия возникают в других тканях и в сердце. Точность при синтезе белков обеспечивается аминоацил-тРНК-синтетазами (АРСазаы); как и многие другие тРНК-синтетазы, они содержат редактирующие домены, на которых гидролизуются неподходящие молекулы тРНК, предотвращая соединение аминокислот в «неправильные» полипептидные цепи. Целью настоящей работы являлось исследование патологического действия трансляционных ошибок в естественных условиях, для чего была генетически снижена редактирующая функция АРСазы в организмах мышей. Результаты фиксировались с помощью ряда инструментальных и статистических методов, в том числе электронной микроскопии, гистологического анализа, эхо- и электрокардиографии. Данная генетическая регуляция привела к потере клеток Пуркинье и обильному образованию кардиомиоцитов с их последующей гибелью. Можно сказать, что гипоморфные мутации в редактирующем домене аланил-тРНК-синтетазы приводят к накоплению патологических белков в конкретных нейронах. Серьезное нарушение функционирования АРСаз вызывает эмбриональную смертность, тогда как небольшое сокращение редактирующей эффективности проявляется в виде образования белковых агрегатов и митохондриальных дефектах кардиомиоцитов, сопровождающихся прогрессирующим сердечным фиброзом и дисфункцией. Т. о., становится ясно, что снижение эффективности аланил-тРНК-синтетазы вызывает разворачивание белковых агрегатов и клеточную смерть в сердце млекопитающих организмов. Этот факт иллюстрирует важность соблюдения точности трансляции в процессе сердечного гомеостаза и доказывает, что генетические факторы вносят существенный вклад в протеинопатию сердечной и других мышц. Однако точность синтеза белков также может зависеть и от факторов окружающей среды, таких как окислительный стресс. В целом, влияние неправильного клеточного гомеостаза на сложные высшие организмы еще недостаточно изучено. Тем не менее, авторам удалось описать общий механизм агрегации белков в кардиомиоцитах и нейронах, а также выяснить, что уменьшение редактирующей активности тРНК-синтетазы приводит к значительным патологическим последствиям. Несмотря на то, что неточность трансляции белка приводит к неправильному сворачиванию как в случае кардиомиоцитов, так и в случае клеток Пуркинье, пути, которые ведут к гибели этих двух типов клеток на самом деле могут быть совершенно разными. Из чего следует, что детальное изучение последствий некорректного функционирования данных ферментов поможет более точно описать механизм, лежащий в основе развития сердечной протеинопатии, а также патологий других тканей организма.

К.С. Дотолева

## Молекулярная архитектура комплекса $\alpha\beta$ -Т-клеточный рецептор — CD3

Molecular architecture of the  $\alpha\beta$  T cell receptor—CD3 complex. Michael E. Birnbaum, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17576–17581.

Т-клетки являются ключевыми медиаторами адаптивного иммунного ответа. Каждая  $\alpha\beta$ -Т-клетка содержит уникальный  $\alpha\beta$ -Т-клеточный рецептор (TCR), который связывает антигены *главного комплекса гистосовместимости* (ГКГС) и ГКГС-подобные молекулы. TCR являются чрезвычайно «чувствительной» движущей силой клеточных процессов: TCR-лиганды обычно связываются достаточно слабо (1–200 мкМ), однако даже небольшое количество TCR-лигандов достаточно, чтобы полностью активировать Т-клетки. TCR не обладает внутриклеточным доменом сигнализации, вместо этого TCR нековалентно связан с мультисубъединичным аппаратом сигнализации, состоящим из CD3 $\epsilon\gamma$  и CD3 $\epsilon\delta$ -гетеродимеров и гомодимера CD3 $\zeta\zeta$ , которые в совокупности образуют TCR — CD3-комплекс. В CD3 $\gamma/\delta/\epsilon$  все субъединицы состоят из одного внеклеточного Ig-домена и одного активационного тирозинсодержащего мотива иммунорецепторов (ITAM — immunoreceptor tyrosine-based activation motif), в то время как CD3 $\zeta$  содержит короткий внеклеточный домен (ECD — extracellular domain) и 3 ITAM. Комплекс TCR — CD3 находится в стехиометрическом соотношении 1:1:1:1 ( $\alpha\beta$ TCR:CD3 $\epsilon\gamma$ :CD3 $\epsilon\delta$ :CD3 $\zeta\zeta$ ) для димеров. Фосфорилирование внутриклеточных CD3 ITAM и подбор NCK-адаптера приводят к активации Т-клеток, пролиферации и выживаемости. Понимание основных принципов TCR — CD3-архитектуры и сигнализации Т-клеток имеет терапевтический интерес. Например, TCR — CD3 является мишенью терапевтических антител, таких как иммунодепрессанты ОКТ3, также существует возрастающий интерес к манипуляции Т-клеток Ag-зависимым способом с помощью естественных и инженерных TCR. TCR — CD3-комплекс в первую очередь управляется трансмембранными (TM) регионами белков. Роль взаимодействий между TCR и CD3 ECDs в функциях этого комплекса остается спорной: предложено несколько вероятных моделей активации, которые не обязательно являются взаимоисключающими. Хотя структура комплексов TCR — пептид — ГКГС, TCR — MHC-I-подобных комплексов, и димеров CD3 были определены отдельно, механизм ассоциации  $\alpha\beta$ -TCR с CD3 комплексом является в значительной степени неизвестным. Авторы работы использовали два самостоятельных структурных подхода, чтобы получить представление об архитектуре комплекса TCR — CD3. Для создания стабильного комплекса растворимого TCR и CD3 $\epsilon\delta$ , подходящего для структурного анализа, авторы разработали модель, в которой гидрофобные домены TM были заменены параллельной гетеротримерной гибкой катушкой, обеспечивающей аналогичную структуру с предлагаемым комплексом TCR $\alpha$  — CD3 $\epsilon\delta$  TM. При отсутствии взаимодействий между TCR и CD3-TM-спиралями не удалось зафиксировать никаких взаимодействий между  $\alpha\beta$ -TCR и CD3 ECDs, это позволяет предположить, что любые TCR — CD3 ECD межмолекулярные взаимодействия очень слабы. Кроме того, малоугловое рентгеновское рассеяние дало возможность определить размещение  $\alpha\beta$ -TCR и CD3 $\epsilon\delta$  ECD и установить относительные позиции ECD TCR и CD3. Ученые отмечают, что, базируясь на полученной в работе информации, разработанные механистические модели TCR-активации будут проверены экспериментально с гораздо более высокой точностью и ясностью.

Р.П. Сидоров



# МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

## Полимеризация актина как ключевой эффектор врожденного иммунного механизма контроля инфекции *Salmonella*

Actin polymerization as a key innate immune effector mechanism to control *Salmonella* infection. Si Ming Man, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17588–17593.

Способность бактерий инфицировать и выживать в клетках хозяина, таких как макрофаги, является важным моментом в развитии бактериальной инфекции. *Salmonella enterica*, патоген, способный реплицироваться в макрофагах, является причиной опасного для жизни человека и животных заболевания сальмонеллеза, на который приходится большая часть пищевых отравлений. Эти бактерии в макрофагах хозяина образуют вакуоли, содержащие сальмонеллы (SCV), и такие вакуоли предохраняют их от внеклеточного антимикробного иммунного ответа. Ограничение внутриклеточной бактериальной нагрузки в этом случае является необходимым условием эффективной борьбы зараженного организма с инфекцией. Микробы распознаются макрофагами при помощи рецепторов распознавания (PRRs), таких как Толл-подобные рецепторы (TLRs) и нуклеотид-связывающие олигомеризующиеся домен-подобные рецепторы (NLRs). К последним относится, в частности, NLRC4, который инициирует врожденный иммунный ответ, включая продукцию цитокинов, индукцию инфламмосомных эффекторов и уничтожение бактерий, играя ключевую роль в контроле инфекции *S. enterica*. Авторы исследовали роль NLRC4 и NLRP3 в подавлении инфекции *Salmonella in vivo*. Они сконструировали линии мышей, макрофаги которых несут делеции генов *Nlrc4*, *Nlrc3*, *Casp1* или *Casp11*, и исследовали протекание инфекции в этих мышцах. Авторы продемонстрировали, что только отсутствие NLRC4 приводит к заметному увеличению инфекции и отсутствию иммунного ответа. NLRC4 также необходим для прекращения бактериальной репликации в SCVs. Ранее были получены данные о том, что перестройки цитоскелета, в частности, изменения в конформации актина, необходимы для входа *Salmonella* в эпителиальные клетки. Авторы предположили, что функция NLRC4 состоит в нарушении цитоскелета и уменьшении бактериального поглощения макрофагами. Авторы исследовали состояние цитоскелета в клетках дикого типа и в клетках с делецией гена *Nlrc4* и показали, что неинфицированные клетки обоих типов имеют одинаковые свойства вискоэластичности. Инфицированные макрофаги дикого типа становятся менее деформированными и более жесткими, в то время как клетки с делецией *Nlrc4* не меняют своих свойств. Дальнейшие эксперименты с использованием микроскопии, окрашивания и ингибирования полимеризации актина различными химическими ингибиторами подтвердили, что именно полимеризация актина приводит в действие механизм, благодаря которому NLRC4 активирует внутренний иммунный ответ на инфекцию *Salmonella*. В частности, полимеризация актина, вызванная NLRC4, необходима для регуляции внутриклеточной бактериальной нагрузки, сборки инфламмосомы, пироптоза и продукции цитокинов. Кроме того, вызванные действием NLRC4 изменения в полимеризации актина приводят к снижению бактериального поглощения за счет увеличения клеточной жесткости, и к снижению миграции макрофагов. Авторы продемонстрировали функциональную связь между врожденным иммунитетом и состоянием актина в макрофагах, который лежит в основе ключевого механизма иммунной защиты от сальмонеллеза.

Е.А. Кутукова

## Лечение инфекции *Helicobacter pylori* линоленовой кислотой в липосомах препятствует образованию бактериальных колоний и снижает воспаление

In vivo treatment of *Helicobacter pylori* infection with liposomal linolenic acid reduces colonization and ameliorates inflammation. Soracha Thamphiwatana, et al. PNAS. 2014. No 49. P.17600–17605.

Инфекция *Helicobacter pylori* — одна из причин заболеваний желудка: гастрита, язвы и рака. Быстрое появление новых штаммов, устойчивых к антибиотикам, снижает эффективность существующих методов лечения. В данном исследовании *in vivo* был определен потенциал нового метода лечения с использованием линоленовой кислоты (ЛК) в липосомах. Частицы с гидродинамическим диаметром 105,7±0,3 нм и дзета-потенциалом -54,9±1,0 мВ легко связываются с бактериальной мембраной и выделяют большое количество ЛК. Успешное слияние бактериальной мембраны и липосом с ЛК, несущих флуоресцентную метку, подтверждалось появлением флуоресценции вокруг нуклеоидов бактерий. Флуоресцирующие зоны повторяли спиральную форму *H. pylori*. Бактерицидная активность ЛК, доставляемой в липосомах, была показана и *in vitro*. При инкубации бактерий в средах с разными концентрациями липосом наблюдалась нелинейная корреляция концентрации препарата и жизнеспособности бактерий. Минимальная бактерицидная концентрация (необходимая для уничтожения 99,9% бактерий за полчаса инкубации) составила соответственно 65 и 80 мкг/мл для липосомного препарата и ЛК без липосом. Однако показатели о высвобождении лактатдегидрогеназы из клеток карциномы желудка при воздействии ЛК в липосомах говорят о низкой токсичности препарата, тогда как ЛК без липосом стимулирует высвобождение лактатдегидрогеназы. Флуоресцентное маркирование липосом с ЛК позволило отследить их распределение в организме мышей: препарат легко проникал в слизистую желудка и равномерно распределялся в ней. Уже через 4 ч после приема внутрь существенное его количество (69 мкг) обнаруживалось в желудке, через 24 ч сохранялось 34 мкг. Препарат эффективно вызывал гибель *H. pylori* в желудке: содержание бактерий после приема снижалось в тысячи раз (тогда как при приеме ЛК без липосом — менее чем в 100 раз). Более высокая эффективность липосомного препарата, вероятно, объясняется его способностью сливаться с бактериальной мембраной. Как показал анализ ПЦР в реальном времени, препарат также снижал уровни экспрессии провоспалительных цитокинов — интерлейкинов IL-1β и IL-6 и фактора некроза опухоли TNFα, содержание которых при инфекции повышается. Проверка цитотоксичности продемонстрировала отличную биологическую совместимость липосом с ЛК и здорового желудка мышей. При приеме ЛК в липосомах внутрь здоровые мыши в течение всего пятидневного наблюдения сохраняли нормальный вес. Последующий гистологический анализ выявил сохранение нормальной структуры эпителиального слоя желудка. Метод TUNEL не выявил апоптоза в желудочном эпителии, что подтверждает безопасность описанного метода лечения. Т. о., в работе описан перспективный и безопасный метод лечения инфекции *H. pylori*. Кроме того, этот терапевтический агент является природным компонентом растительных масел, что обеспечивает его доступность. Аналогичные подходы могут быть использованы в лечении других инфекций.

А.Л. Братцева

# МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

## Гиперэкспрессия *MACROD2* обуславливает эстроген-независимый рост и сопротивляемость тамоксифену раковых опухолей молочной железы

*MACROD2* overexpression mediates estrogen independent growth and tamoxifen resistance in breast cancers. Morassa Mohseni, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P.17606–17611.

Тамоксифен — эффективное лекарственное средство против ER-положительных (экспрессирующих рецептор эстрогена  $\alpha$ ) раковых опухолей молочной железы. Однако обнаружены некоторые вещества, обеспечивающие устойчивость опухолей к тамоксифену. В данном исследовании методами учета однонуклеотидных полиморфизмов и количественной ПЦП был обнаружен новый ген этой сопротивляемости, *MACROD2*, регулирующий независимый от эстрогена рост опухолей. В устойчивых к тамоксифену опухолях он экспрессируется избыточно. Методом вестерн-блоттинга в опухолях было выявлено повышенное содержание белка *MACROD2*. Иммуногистохимическое окрашивание первичных опухолей и их метастаз в печени выявило присутствие *MACROD2* в 3 первичных опухолях из 5 и во многих метастазах, причем по данным количественной ПЦП уровни экспрессии его гена варьировали в метастазах одной и той же опухоли. Искусственная гиперэкспрессия полной кДНК *MACROD2* в клеточных линиях ER-положительных опухолей привела к развитию устойчивости к семидневной обработке тамоксифеном: более того, тамоксифен стимулировал рост этих опухолей, причем более эффективно, чем эстроген. При этом РНК-интерференция *MACROD2* в устойчивых опухолях снижает их сопротивляемость тамоксифену, но не восстанавливает их чувствительность полностью, так как РНК-интерференция полностью не блокирует экспрессию гена. *MACROD2* стимулирует связывание коактиватора рецептора эстрогена  $\alpha$  p300 с последовательностями связывания транскрипционных факторов в ряде генов, регулируемых этим рецептором. Уровень экспрессии этих генов повышен в устойчивых опухолях в отсутствие эстрогена и тамоксифена. По данным хроматиновой иммунопреципитации в устойчивых опухолях при обработке тамоксифеном p300 более эффективно, чем в чувствительных опухолях, связывается со всеми известными ER-чувствительными сайтами связывания, тогда как обработка эстрогеном усиленное связывание p300 наблюдается лишь в некоторых из них. Вероятно, именно усиленное связывание p300 с регуляторными последовательностями стимулирует экспрессию ER-зависимых генов при гиперэкспрессии *MACROD2*. С помощью белковых чипов с обратной фазой удалось установить, что при гиперэкспрессии *MACROD2* повышается уровень экспрессии и ER-независимых генов, способствующих росту опухолей. При этом трансфекция *MACROD2* ER-отрицательных опухолевых клеток не повлияла на их пролиферацию, что позволяет предположить зависимость *MACROD2* от рецептора эстрогена. Гиперэкспрессия *MACROD2* также приводит к эстроген-независимому росту ER-положительных опухолей, пересаженных бестимусным мышам. В отсутствие экзогенного эстрогена ксенографты с нормальной экспрессией *MACROD2* не развивались. Анализ историй болезни из базы данных METABRIC показал, что повышенный уровень экспрессии *MACROD2* в первичных опухолях коррелирует с неблагоприятным прогнозом. Результаты исследования позволяют считать *MACROD2* перспективной мишенью диагностики и терапии.

А.Л. Братцева

## Новые капиллярные сосуды омолаживают панкреатические островки

Young capillary vessels rejuvenate aged pancreatic islets. Joana Almaça, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17612–17617.

Регуляция уровня глюкозы в крови (гликемия) является гомеостатическим процессом, функция которого с возрастом снижается, и это является серьезной проблемой здоровья среди людей пожилого возраста, приводящей к развитию диабета 2-го типа и других связанных с ним хронических болезней. Существует мнение, что причиной ослабления гомеостаза глюкозы является нарастающая с возрастом дисфункция регулятивного органа, отвечающего за этот процесс — панкреатических островков (ПО) поджелудочной железы. Панкреатические островки (островки Лангерганса) — маленькие органы, состоящие из эндокринных клеток, вырабатывающих гормоны, играющие ключевую роль в регуляции уровня глюкозы в крови, — инсулин, глюкагон и соматостатин. Причина возрастного ослабления функций ПО до сих пор является предметом обсуждения. Авторы показывают, что старение ПО, как у мышей, так и у человека, связано, прежде всего, с развитием процессов воспаления и фиброза кровеносных сосудов островков. При этом экспериментально подтверждено, что чувствительность к глюкозе и секреторная способность бета-клеток вырабатывать инсулин в пожилом возрасте остается на том же уровне, что и в молодости. С возрастом не меняются также пропорции и цитоархитектура ПО (альфа-клетки располагаются по периферии, бета-клетки — в ядре), а размер ПО с возрастом увеличивается одновременно за счет роста числа бета-клеток и их размера. При пересадке ПО старой мыши в переднюю камеру глаза молодой мыши, больной диабетом, наблюдалась ревазуляризация (омоложение) кровеносных сосудов ПО, происходила мощная пролиферация клеток ПО и полностью восстанавливалась функция контроля гликемии. Факт полного восстановления сосудов ПО с исчезновением в них признаков воспаления и фиброза тем более удивителен, учитывая, что возраст мыши, от которой пересадили ПО, составлял 29 мес, что примерно соответствует 80 годам при пересчете на человеческий возраст. Итак, вопреки распространенному мнению о том, что вырабатывающие инсулин бета-клетки поджелудочной железы со временем «изнашиваются» и теряют свою функцию, что, в свою очередь, приводит к возрастным нарушениям гомеостаза глюкозы, авторы показали, что бета-клетки, как у мышей, так и у человека, полностью сохраняют свою работоспособность и в пожилом возрасте, а ухудшение работы ПО связано с их васкулярным старением. Такой вывод позволяет объяснить и кажущееся эмпирическое противоречие между результатами *in vitro* экспериментов, не обнаруживающих снижения секреции инсулина с возрастом, и *in vivo* наблюдений, однозначно указывающих на пониженный уровень инсулина в плазме крови старой мыши, подвергнутой гипергликемии. Таким образом, стратегия борьбы с возрастными нарушениями регуляции гликемии должна быть нацелена, прежде всего, на профилактику воспалительных и фиброзных процессов сосудистой сети панкреатических островков.

В.В. Стрекопытов

# МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

## Рекомбинантный тример оболочки ВИЧ для антител, зависящих от четвертичной структуры и ориентированных на его вершину

Recombinant HIV envelope trimer selects for quaternary-dependent antibodies targeting the trimer apex. Devin Sok, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17624–17629.

В настоящее время разработаны различные способы выделения нейтрализующих антител к ВИЧ широкого спектра действия (bnAbs). В процессе выделения первого поколения bnAbs (B12, 2F5, 2G12, 4E10 и Z13) использовалась как гибридная технология, так и технология фагового дисплея. Полученные антитела способны нейтрализовать от 30 до 90% первичных изолятов ВИЧ, однако обладают умеренной эффективностью нейтрализации (средняя концентрация полумаксимального ингибирования IC<sub>50</sub> ~2–4 мкг/мл). Доступ к инфицированным донорам, обладающим высоким титром сыровоточных bnAbs, в совокупности с новыми подходами к выделению моноклональных антител (mAbs) человека позволил открыть новые поколения более мощных антител. При этом способы выделения bnAbs, ориентированных на вершины тримера белковой оболочки ВИЧ (Env), оставались ограниченными четвертичной природой эпитопной области. Один из новейших подходов включает в себя сортировку и активацию большого числа В-клеток памяти с использованием цитокин-секретирующих фидерных клеток и последующим высокопроизводительным скринингом из супернатантов для нейтрализации. Этот метод позволил идентифицировать и определить характеристики первых bnAbs нового поколения — PG9 и PG16; также было выявлено несколько участков на белковой оболочке ВИЧ, наиболее уязвимых для bnAbs. Альтернативный способ выделения bnAb включает использование растворимых молекул Env или каркасных белков в качестве «приманки» для выбора отдельных IgG положительных В-клеток памяти, путем их сортировки. Тем не менее, использование растворимых приманок не увенчалось успехом в выделении антител, нацеленных на эпитопы четвертичной структуры, поскольку используемые до настоящего времени белковые конструкции не способны должным образом изобразить родные тримеры Env. Для решения этой проблемы, были выделены антитела 3BC176 и 3BC315, использовав GFP-меченые клетки 293T, выражающие клеточную поверхность Env. Полученные антитела не объединяются с растворимыми мономерами, но связываются с тримерами Env, что свидетельствует о полезности данного подхода. Однако данный метод менее эффективен, чем использование растворимых белков-приманок. В рамках проведенного исследования авторы использовали рекомбинантный тример Env (BG505 SOSIP.664 gp140) в качестве аффинного реагента для выделения зависящих от четвертичной структуры bnAbs из мононуклеарных клеток периферической крови хронически инфицированного донора. Вновь выделенные bnAbs, названные «PGDM1400-1412» продемонстрировали крайне высокую эффективность. Один из полученных вариантов (PGDM1400) показал исключительно широкий и мощный спектр нейтрализации — порядка 83% при среднем значении IC<sub>50</sub> ~000,3 мкг/мл. Полученные результаты указывают на полезность использования предложенного тримера в качестве инструмента для выделения антител, зависящих от четвертичной структуры, и выявления мозаики иммунных ответов.

А.В. Моисеев

## Оксид азота регулирует синаптическую передачу между спинальными проекционными нейронами

Nitric oxide regulates synaptic transmission between spiny projection neurons. Yotam Sagi, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17636–17641.

Оксид азота (NO) участвует в модуляции синаптической функции на всем протяжении ЦНС, обеспечивая процессы высвобождения медиатора и пластичность. Главной мишенью действия NO являются растворенные в цитоплазме молекулы гуанилилциклазы (sGC), включающие в себя альфа- и бета-субъединицы. После активации, sGC генерируют внутриклеточные молекулы цГМФ, действующие на широкий спектр мишеней — каналы, фосфодиэстеразы и киназы, что и обуславливает модуляцию синаптической функции. Гуанилатциклазы экспрессируются во многих областях взрослого мозга, однако, наибольший уровень экспрессии и активности проявляют в областях стриатума, где они облегчают NO-опосредованную трансмиссию сигнала и пластичность кортикостриальных синапсов. Для изучения молекул, принимающих участие в формировании пластичности, были выведены мыши с дефектной sGCβ1-субъединицей гуанилатциклазы исключительно в структурах стриатума. После чего анализировались транскрипционные изменения в определенной популяции проекционных спинальных нейронов. В результате было продемонстрировано снижение уровня везикулярного транспортера ГАМК, а также снижение активности самих ГАМКергических терминалей на коллатералах SPNs стриатума. При этом было показано, что аксональные коллатерали являются главным путем сообщения между спинальными проекционными нейронами стриатума и оказывают большое влияние на функционирование базальных ганглиев. Таким образом, оксид азота, локализуемый в нейронах стриатума, способен усиливать экспрессию везикулярных транспортеров ГАМК (VGAT), которые локализуются внутри коллатералей SPNs. Оценка локомоторных функций данных мышей проводилась в тесте открытое поле. Экспериментальные мыши имели более высокий уровень активности по сравнению с контрольной группой: в течение первых 5 мин теста у них не наблюдалось индукции двигательной активности, в то время как однократное введение ингибитора синтазы оксида азота (L-NG-нитроаргининметилового эфира) приводило к снижению количества движений. Полученные результаты свидетельствуют о том, что экстрастриальные молекулы NO являются мишенью препарата. В рамках эксперимента было высказано предположение о способности стриального NO к регуляции синаптической пластичности, поскольку поведенческие нарушения были зафиксированы у нокаутных мышей по sGCβ1 (sGCβ1 KD мышей). Для того чтобы идентифицировать гены, экспрессия которых регулируется при участии оксида азота, были проанализированы экспрессионные профили mPNC SPNs нейронов у sGCβ1 KD-мышей. Методом ПЦР было выявлено, что у данных мышей на 41±18 % снижено количество mPNC из экспрессионной области Drd1 SPNs нейронов. Данное исследование проливает свет на роль оксида азота в функционировании системы базальных ганглиев, что важно для разработки клинических способов коррекции ряда нарушений функционирования локомоторной системы человека.

А.Ю. Ольховик

# МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

## Общая мозговая функциональная сеть объединяет развитие, и старение, и восприимчивость к заболеваниям

A common brain network links development, aging, and vulnerability to disease. Gwenaëlle Douaud, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17648–17653.

Многие филогенетические и онтогенетические модели пытаются связать развитие и старение на генетическом, молекулярном или когнитивном уровнях. Одна из наиболее популярных гипотез в нейронауке постулирует, что возрастные процессы снижения функционирования здорового мозга «отражают» процессы созревания в развитии. Эта концепция была впервые предложена в 1881 г. как «закон регрессии» (закон Рибо). Рибо обнаружил, что последовательность разрушения памяти имеет обратный порядок, относительно ее приобретения: от нестабильного к стабильному, от недавно сформированных к более старым «сенсорным, инстинктивным» видам памяти. В более общем виде эта гипотеза постулирует, что последовательность событий, связанная со снижением функции мозга, должна происходить в обратном порядке относительно серий событий развития мозга. Т. е. те регионы мозга, которые развиваются относительно поздно (как на онтогенетическом, так и на филогенетическом уровне), должны подвергаться дегенерации относительно рано. Однако, объективного доказательства такой связи между старением здорового мозга и развитием мозговых структур, до сих пор не существует. Эту гипотезу можно проверить путем анализа изображений магнитно-резонансной томографии, полученных на разных этапах онтогенеза человека. В этом исследовании были использованы данные о межиндивидуальной вариабельности мозговых структур у 484 здоровых испытуемых, чей возраст покрывал большую часть длительности человеческой жизни (8–85 лет). С помощью независимого компонентного анализа (independent component analysis, ICA) были проанализированы изображения структур мозга этих здоровых испытуемых. Такой подход позволил осуществить автоматическую декомпозицию изображений в пространственные компоненты, характеризующие межиндивидуальную вариабельность мозговых структур, т. е. каждый пространственный компонент представлял собой моду вариации мозговой структуры среди всех испытуемых. Было обнаружено, что такой анализ выявляет большую трансмодальную сеть, паттерн возрастных изменений которой объективно свидетельствует в пользу гипотезы «отражения» старения в развитии. В данной работе показано, что эта распределенная по мозгу сеть, развивающаяся относительно поздно во время подросткового периода и демонстрирующая ускоренную дегенерацию на поздних этапах онтогенеза, по сравнению с остальным мозгом, связывает области особенно склонные к патологическим вариантам развития и старения. Эта сеть, выявленная на здоровых испытуемых, воспроизводит пространственные паттерны мозговых патологий, наблюдаемые как при шизофрении, так и при болезни Альцгеймера. Функционирование этой сети связано с интеллектуальными способностями и эпизодической памятью, нарушения в которых, как известно, характеризуют ключевые симптомы шизофрении и болезни Альцгеймера. Все эти результаты позволяют предположить, что общий пространственный паттерн патологий, наблюдаемых при этих двух заболеваниях, возникающих на противоположных концах жизненного пути, находится под влиянием временных рамок различных патологических процессов, нарушающих здоровое развитие и старение коры, соответственно.

О.Е. Сварник

## Более выраженная функциональная связанность гиппокампальных областей в состоянии покоя лежит в основе снижения нейрокогнитивной функции при старении

Elevated hippocampal resting-state connectivity underlies deficient neurocognitive function in aging. Alireza Salami, Sara Pudas, Lars Nyberg. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17654–17659.

Мозг не бездействует в состоянии покоя. Скорее наоборот, внутренние обмены сигналами между нейронами, проявляющиеся как спонтанные флуктуации сигналов функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ), основанных на уровне кислорода в крови (blood oxygen level-dependent) происходят повсеместно в человеческом мозге и потребляют существенную часть энергии мозга. Когерентная спонтанная активность обнаруживается в иерархиях сетей, которые соединяют масштабные функциональные системы мозга. Активность этих сетей состояния покоя (resting-state networks) демонстрирует достаточную воспроизводимость. Во взрослом мозге человека сети состояния покоя включают в себя сенсорные, моторные, зрительные сети, а также сети внимания, памяти и сети стандартного режима (default mode network). Существует доказательство, что сети стандартного режима содержат в себе взаимодействующие подсистемы и хабы, которые вовлечены в эпизодическую память. Один из главных хабов охватывает заднюю цингулярную кору и ретроспленальную кору. Гиппокампальная подсистема является отличной от них, но взаимосвязанной с главными хабами сети стандартного режима. Функциональная архитектура сети стандартного режима и других сетей состояния покоя находится под влиянием различных патологических состояний, например, болезни Альцгеймера или Паркинсона. Это предполагает, что измерение внутренней мозговой активности может быть чувствительным биомаркером и возможным диагностическим средством. Старение также сопровождается разрушительными изменениями в масштабных мозговых системах, таких как сеть стандартного режима и гиппокампальная подсистема, которая обеспечивает высшие когнитивные функции. Однако точная форма изменений этих сетей с возрастом, обуславливающая проблемы с памятью, остается неизвестной. В настоящей работе использовались данные фМРТ, полученные с участием 339 испытуемых (25–80 лет), выполняющих различные задачи. Были выявлены возрастные снижения функциональной связанности в состоянии покоя в большинстве частей сети стандартного режима, за исключением гиппокампальной сети, в которой наблюдалось возрастное увеличение связанности между левым и правым гиппокампом. Кроме того, обнаружилось возрастное снижение связанности между гиппокампом и корой. Увеличение гиппокампальной связанности в состоянии покоя, которое частично объясняется возрастным снижением целостности белого вещества свода конечного мозга, оказалось связано с ухудшением выполнения задач на эпизодическую память и общим снижением памяти. Кроме того, повышенная связанность гиппокампа в состоянии покоя оказалась связана со сниженным вовлечением нейронов гиппокампа во время кодирования памяти, что предполагает, что выраженная связанность гиппокампа ограничивает степени взаимодействия гиппокампа с другими регионами мозга во время активной обработки памяти. Полученные данные позволяют предложить модель, в которой возрастные нарушения кортико-гиппокампальной функциональной связанности приводят к большей изолированности гиппокампа в состоянии покоя.

О.Е. Сварник



# МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

## Функциональные различия между сайтами связывания нейротрансмиттеров у мышечных ацетилхолиновых рецепторов

Functional differences between neurotransmitter binding sites of muscle acetylcholine receptors. Tapan K. Nayak, Iva Bruhova, Srirupa Chakraborty, Shaweta Gupta, Wenjun Zheng, and Anthony Auerbach. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17660–17665.

Превращение нервного импульса в мышечное сокращение происходит посредством действия нервно-мышечного синапса, в котором медиатором является ацетилхолин. Мышечные рецепторы к ацетилхолину (muscle acetylcholine receptors, AchRs) входят в группу рецепторов-ионных каналов и представляют собой гетероолигомеры, состоящие из пяти субъединиц, которые на эмбриональной стадии развития имеют состав  $\alpha_2\beta\delta\gamma$ , в то время как у взрослого варианта AchRs субъединица  $\gamma$ , которая необходима для правильного созревания развивающихся синапсов, заменена на  $\epsilon$ , необходимый для нормальной функции зрелого синапса, таким образом взрослый AchRs имеет состав  $\alpha_2\beta\delta\epsilon$ . Каждый AchR имеет два ацетилхолин-связывающих сайта на поверхности соединения  $\alpha\delta$ -субъединиц, а также на поверхности соединения  $\alpha\epsilon$  ( $\gamma$  взрослого AchR) или  $\alpha\gamma$  ( $\gamma$  эмбрионального AchR). Авторами предложенной статьи, при помощи электрофизиологических измерений единичного канала, была измерена разница в свободной энергии связывания агониста между активным и неактивным рецепторами ( $\Delta G_{B1}$ ). Было обнаружено независимое поведение двух сайтов связывания у взрослого и эмбрионального вариантов AchR. Для четырех исследованных агонистов AchRs, ацетилхолина, карбамилхолина, тетраметиламмония и холина,  $\Delta G_{B1}$  была более благоприятна примерно на  $-2$  ккал/моль у  $\alpha\gamma$  комбинации по сравнению с  $\alpha\delta$  и  $\alpha\epsilon$  комбинациями субъединиц. Был исследован вклад пяти консервативных аминокислот, несущих ароматические группы ( $\alpha Y93$ ,  $\alpha Y190$ ,  $\alpha Y198$ ,  $\alpha W149$  и  $\gamma W55$ ), в образование  $\Delta G_{B1}$  при связывании рецептора с ацетилхолином. Было обнаружено, что только три из них играют роль при связывании взрослого ( $\alpha\epsilon$ ) AchR,  $\alpha Y190$ ,  $\alpha Y198$  и  $\alpha W149$ , в то время как все пять аминокислот вносили вклад в связывание эмбрионального  $\alpha\gamma$  AchR. Гидроксильные и бензольные группы тирозинов  $\alpha Y190$  и  $\alpha Y198$ , располагающиеся на С петле рецептора, имели схожее поведение в отношении  $\Delta G_{B1}$  для трех типов ацетилхолин-связывающих сайтов. Было проведено компьютерное моделирование молекулярной динамики взрослого и эмбрионального AchRs, и найдено хорошее соответствие моделирования и экспериментальных данных. Было предложено, что  $\alpha\gamma$ -комбинация образует более компактную структуру, которая лучше организована и менее динамична по сравнению с  $\alpha\delta$  и  $\alpha\epsilon$ -комбинациями субъединиц. Также предположили, что различия в чувствительности взрослого, по сравнению с эмбриональным, AchR-рецептора важны для правильного созревания и функционирования рецепторов в нервно-мышечном синапсе. Авторами было отмечено, что данная работа является первой, в которой была измерена свободная энергия связывания отдельного связывающего сайта рецептора с лигандом.

Д. А. Лим

## Продукты Wnt, образуемые в Osterix-экспрессирующих остеогенных клетках, регулируют их пролиферацию и дифференцировку

Wnts produced by Osterix-expressing osteolineage cells regulate their proliferation and differentiation. Si Hui Tan, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. E5262–E5271.

Несмотря на важность сигнального пути Wnt в развитии костной ткани, существует пробел в знаниях об идентичности клеток, которые производят Wnt-лиганды, и в функциях Wnt, которые продуцируют различные виды клеток. В данном исследовании, используя метод РНК *in situ* гибридизации с разрешением в одну клетку, авторы всесторонне охарактеризовали экспрессионные паттерны всех 19 Wnt-генов в развивающейся костной ткани мыши и определили клетки, продуцирующие Wnt. Клетки костной ткани возникают из мультипотентных мезенхимальных предшественников, которые впоследствии дают остеогенные клетки. У перинатальных мышей обе популяции этих клеток экспрессируют ген *Osterix* (*Ost*), вплоть до дифференцировки клеток в остеобласты. Остеобласты образуют органический матрикс кости, при этом некоторые из них становятся остеоцитами. Неспособность отвечать на Wnt-сигнализацию на любой стадии остеогенеза приводит к нарушениям формирования костей или наращивания костной массы. Авторы статьи обнаружили, что несколько генов Wnt экспрессируются вдоль всей кости новорожденной мыши, главным образом, в клетках, выстилающих трабекулы и кортикальные эндостеальные поверхности, в пределах надхрящницы и надкостницы. Во время эмбрионального развития остеогенные клетки обычно встречаются в этих участках, особенно в надхрящнице. При этом отдельные Wnt-гены демонстрируют отчетливые паттерны экспрессии в различных частях кости. Наиболее высокая экспрессия на протяжении всей кости наблюдается у гена *Wnt10b*, который считается одним из самых важных Wnt-генов в биологии костной ткани. Кроме того, авторы идентифицировали клетки, отвечающие на Wnt-сигнализацию экспрессией гена *Axin2*, который является геном-мишенью для Wnt. Паттерн экспрессии гена *Axin2* совпадал с таковым у Wnt-генов. Затем авторы провели *in situ* гибридизацию клеток, экспрессирующих как *Axin2*, так и *Wnt10b*. Оба транскрипта часто колокализировались в клетках, экспрессирующих *Osx*, который является маркером для остеогенных клеток. Данный анализ показал, что популяция клеток, экспрессирующих *Osx*, может как производить, так и отвечать на Wnt сигнализацию. Дальнейшее исследование с использованием метода картирования клеточной судьбы показало, что у новорожденных мышей популяция стромальных клеток, отвечающих на Wnt-сигнализацию (экспрессирующих *Axin2*), содержит предшественников остеогенных клеток, которые способны поддерживать остеогенез в долгосрочной манере. Авторы также показали, что в зрелом возрасте потомки этих клеток могут участвовать в заживлении травм. Чтобы изучить роль Wnt-генов в Osterix-экспрессирующих клетках, авторы ингибировали секрецию Wnt *in vivo*, что привело к нарушениям дифференцировки и пролиферации и к снижению ответа на Wnt-сигнализацию. Таким образом, Osterix-экспрессирующие клетки продуцируют свои собственные Wnt, которые, в свою очередь, вызывают ответ на Wnt-сигнализацию, тем самым регулируя свою пролиферацию и дифференцировку.

Л.А. Шустикова

# МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

## Измерение «потерянной наследуемости»: заключение о вкладе распространенных генетических вариантов

Measuring missing heritability: Inferring the contribution of common variants. D. Golan, E.S. Lander, and S. Rosset. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. E5272–E5281.

Наследуемость (heritability) определяется как доля фенотипической изменчивости по данному признаку в популяции, обусловленная генетической изменчивостью; эта величина характеризует отношение влияния генетических и негенетических факторов на отклонение фенотипа. Методом полногеномного поиска ассоциаций (genome-wide association study, GWAS, whole genome association study, WGAS), иначе называемого поиском ассоциаций распространенных вариантов (common-variant association study, CVAS), обнаружены тысячи генетических вариантов (genetic variants, аллели), ассоциированных с сотнями заболеваний. Однако варианты, обладающие статистической значимостью, обычно покрывают лишь незначительную долю наследуемости. Одно из объяснений этой «потерянной наследуемости» состоит в том, что существует большое число других ассоциированных с заболеванием распространенных вариантов, эффекты которых слишком малы, чтобы их можно было обнаружить при данном размере выборки. Таким образом, необходим метод количественной оценки наследуемости, обусловленной распространенными вариантами генетической изменчивости без выявления всех случайных вариантов. В недавних исследованиях заболеваний способом случай — контроль (case-control studies) для этого использовалась оценка по методу ограниченного максимального правдоподобия (restricted maximum likelihood, REML). Авторы настоящей работы показали, что такая методика дает существенно заниженную оценку доли наследуемости, обусловленной распространенными аллелями. Степень недооценки повышается с уменьшением частоты заболевания, наследуемости заболевания и размера выборки. Для замены этого метода авторы разработали общую концепцию оценки наследуемости, названную ими регрессией фенотипической корреляции — генотипической корреляции (phenotype correlation — genotype correlation, PCGC), которая обобщает классический регрессионный метод Хаземана — Эльстона (Haseman–Elston regression method). Они показали, что регрессионный метод PCGC дает несмещенную (unbiased) оценку наследуемости. Применяв этот метод к данным по шести заболеваниям, авторы оценили долю фенотипической дисперсии (фенотипическая дисперсия, phenotypic variance), обусловленной распространенными аллелями, в диапазоне от 25% до 56%, а долю обусловленную распространенными аллелями наследуемости — в диапазоне от 41% до 68% (в среднем 60%). Эти результаты свидетельствуют, что для многих заболеваний распространенными аллелями можно объяснить по меньшей мере половину наблюдаемой наследуемости. Регрессия PCGC может быть легко применена к другим статистическим задачам, включая анализ крайних значений фенотипических признаков (analyzing extreme-phenotype studies) и поправку на ковариаты (adjusting for covariates, covariate adjustment), такие как пол, возраст и структура популяции.

А.Б. Образцов

## Аберрации плазменной ДНК у пациентов с системной красной волчанкой, выявленные с помощью секвенирования геномной и метилированной ДНК

Plasma DNA aberrations in systemic lupus erythematosus revealed by genomic and methylomic sequencing. Rebecca W. Y. Chan, et al. PNAS. 2014. No 49. P. E5302–E5311.

Системная красная волчанка (СКВ) является аутоиммунным заболеванием, характеризующимся поражением соединительной ткани и ее производных, в силу чего затрагивает различные системы органов, в том числе кожу, мышцы, кости, легкие, почки, а также сердечно-сосудистую и центральную нервную системы. Считается, что дефекты в механизме клеточной смерти, нарушения в утилизации мертвых клеток и дефицит деятельности ДНКаз участвуют в развитии СКВ и в генерации аутоантигенов. Недавние исследования показали, что в патогенезе СКВ важную роль играют также апоптоз и циркуляция ДНК. В данной работе, используя метод массового параллельного секвенирования геномной и метилированной ДНК, авторы провели анализ биологических характеристик плазменной ДНК у пациентов, больных СКВ. Авторы обнаружили ряд аномалий в плазменной ДНК у пациентов с СКВ. В первую очередь, авторы статьи оценили геномное распределение плазменной ДНК вдоль сегментов человеческого генома размером 1 Mb (эти сегменты авторы назвали «bins»). Контрольная группа, состоящая из 11 здоровых индивидуумов, показала как раз геномное распределение молекул плазменной ДНК. Чтобы определить, есть ли отличия в геномном распределении профилей плазменной ДНК у больных СКВ, авторы провели сравнение числа сиквенсов плазменной ДНК, выровненного относительно сегмента bin, со средним числом, обнаруживаемым среди контрольной группы такого же bin. Этот анализ позволил установить отклонения в геномном распределении измеряемой плазменной ДНК у больных СКВ. Степень этих отклонений коррелировала с уровнем антител к двухцепочечной ДНК (anti-double-stranded DNA, anti-dsDNA). Авторы показали, что плазменная ДНК пациентов с СКВ имела перекошенный профиль распределения молекулярных размеров со значительным увеличением доли коротких фрагментов ДНК. При этом степень укорочения плазменной ДНК у пациентов с СКВ коррелировала с индексом активности заболевания (SLE disease activity index, SLEDAI) и уровнем антител anti-dsDNA. Также было обнаружено, что в плазменной ДНК у пациентов с выраженной стадией заболевания снижена плотность метилирования. Степень снижения метилирования коррелировала с SLEDAI и уровнем антител anti-dsDNA. Кроме того, пациенты с СКВ имели более высокие концентрации IgG-связанной ДНК в плазме. Такая IgG-связанная ДНК была короче по размеру и менее метилирована. Таким образом, данное исследование расширило спектр аберраций плазменной ДНК у пациентов с СКВ, что может помочь в разработке новых молекулярных маркеров для диагностики СКВ.

Л.А. Шустикова

# МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Фундаментальная медицина

## Холестерин-зависимые цитоллизин пневмолизин и стрептолизин O связываются с гликанами эритроцитов для проявления гемолитической активности

The cholesterol-dependent cytolysins pneumolysin and streptolysin O require binding to red blood cell glycans for hemolytic activity. Lucy K. Shewell, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. E5312–E5320.

Пневмококк является одной из главных причин заболеваемости и смертности во всем мире. Этот бактериальный возбудитель вызывает целый ряд заболеваний, в том числе пневмонию, менингит, септицемию и средний отит. Одним из наиболее важных факторов вирулентности данного патогена является порообразующий токсин пневмолизин, представляющий собой холестерин-зависимый цитоллизин (CDC). Для цитолитической активности токсина необходимо наличие холестерина, однако не совсем ясно, является ли он единственным необходимым компонентом. Как уже было отмечено, ключевой особенностью CDC, которая является выраженной у ряда патогенных грамположительных бактерий, является способность образовывать поры в клеточных мембранах. Порообразующий механизм представляет собой многостадийный процесс, который включает в себя распознавание и связывание с холестерин-содержащим мембранным доменом, олигомеризацию 34–50 растворимых мономеров на мембране клетки-мишени с образованием большого комплекса и проникновение этой структуры в мембрану. В настоящей работе проводилось исследование данного механизма с привлечением различных инструментальных и расчетных методов. Так, связывание с гликановым микрочипом позволило обнаружить, что пневмолизин способен проявлять лектиновую активность и связывать гликаны, в том числе и антигены системы Льюис. Исследование с применением поверхностного плазмонного резонанса подтвердило наивысшее сродство пневмолизина к структуре сиалил Льюис<sup>x</sup>, со значением константы диссоциации  $K_d=1,88 \times 10^{-5}$  Моль/л. Степень ингибирования гемолитической активности против эритроцитов человека сиалил Льюис<sup>x</sup> зависит от дозы. Мутагенез пневмолизина привел к снижению гемолитической активности и пониженной аффинности к сиалил Льюис<sup>x</sup>. Аналогичный анализ проводили со стрептолизином O, выделенным из пиогенных стрептококков, и он показал, что данная поверхностная структура также имеет гликан-связывающие свойства, а гемолитическая активность против эритроцитов может блокироваться гликанами лакто-N-неотетраозы путем ингибирования связывания с клеточной поверхностью. В результате использования методов проточной цитометрии и вестерн-блоттинга удалось выяснить, что блокирование связывания пневмолизина на эритроцитах препятствует накоплению токсинов в мембране. В совокупности все эти данные подтверждают возникающие сомнения в том, что для физиологической активности порообразующих токсинов, в том числе CDCs, недостаточно наличия одного лишь холестерина в клеточной мембране. Данное исследование, наряду с недавними работами по изучению других стрептококковых и стафилококковых цитоллизин, позволяет достаточно подробно выявить факторы, определяющие клеточный тропизм порообразующих токсинов.

К.С. Дотолева

## Нарушение связывания FAT10 с MAD2 ингибирует опухолевую прогрессию

Disruption of FAT10–MAD2 binding inhibits tumor progression. Steven Setiawan Theng, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. E. 5282–5291.

HLA-F-соединительный транскрипт 10 (FAT10) — это убиквитин-подобный белок-модификатор. FAT10 сверхэкспрессирован в тканях иммунной системы, включая селезенку и тимус. В иммунных клетках FAT10 индуцируется противовоспалительными стимулами и участвует в активации Т-клеток. Кроме того, FAT10 индуцируется цитокинами в различных тканях вне иммунной системы, включая печень и толстый кишечник, хотя его физиологическая роль в этих тканях не ясна. FAT10 также сверхэкспрессирован в различных опухолевых тканях, а полученные авторами ранее результаты говорят о том, что сверхэкспрессия FAT10 индуцирует злокачественную трансформацию нераковых клеток и опухолевый рост в раковых клетках. Полученные ранее данные говорят о том, что FAT10 играет важную роль в митотической регуляции благодаря его взаимодействию с митотическим фактором задержки 2 (MAD2) во время митоза. Это взаимодействие приводит к анеуплоидии, которая, в свою очередь, может провоцировать канцерогенез и является отличительной чертой многих опухолей. Поскольку FAT10 плохо растворим, ранее не было получено никакой информации о его структуре. Авторы, используя NMR спектроскопию и ряд модификаций, установили структуру FAT10. Они продемонстрировали, что FAT10 состоит из двух убиквитинподобных доменов, соединенных подвижной петлей. Домен I содержит 5 β-слоев и одну α-спираль, и структурно похож на убиквитин. Однако электростатический потенциал его поверхности отличается от убиквитина. Авторы идентифицировали поверхность в этом домене, взаимодействующую с MAD2, и продемонстрировали, что только I домен FAT10 взаимодействует с MAD2. Авторы также определили пять аминокислот (H11, R13, H75, T77 и K79), которые могут определять связывание с MAD2. Проведенный затем мутагенез показал, что замена всех этих аминокислот, но не какой-нибудь части из них, приводит к полному нарушению связывания FAT10 и MAD2. Авторы продемонстрировали, что найденная поверхность специфично связывается с MAD2 и мутации в MAD2-связывающем сайте не влияют на взаимодействие FAT10 с другими белками — в том числе, с убиквитинактивирующим белком E1 (UBA6), убиквитинподобным белком NUB1L, деацетилазой гистонов (HDAC6), рецептором автофагосомы p62 и опухолевым супрессором p53. Внесение мутаций, нарушающих взаимодействия между FAT10 и MAD2, практически полностью блокирует эффект сверхэкспрессии FAT10 на опухолевые клетки, включая увеличение опухолевого роста *in vivo* и анеуплоидию, миграцию, инвазию и устойчивость к апоптозу *in vitro*. Кроме того, сверхэкспрессия FAT10 приводит к глобальным изменениям в профиле клеточной генной экспрессии, а нарушение его взаимодействия с MAD2 полностью восстанавливает картину дикого типа. Полученные результаты доказывают, что взаимодействие FAT10 с MAD2 специфично и является ключевым механизмом функционирования FAT10. Эти данные могут быть использованы для развития антираковых стратегий, основанных на ингибировании функционирования FAT10 в предраковых и раковых клетках.

Е.А. Кутукова

# МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ · Клиническая медицина

## Модификация антигена позволяет регулировать конкуренцию между антителами ВИЧ широкого и узкого спектра действия

Antigen modification regulates competition of broad and narrow neutralizing HIV antibodies. Andrew T. McGuire, Anita M. Dreyer, Sara Carbonetti, et al. Science. 2014. Vol. 346. No 6215. P. 1380–1383.

В ходе протекания инфекции ВИЧ-1, гликопротеины вирусной оболочки (Env) вызывают поликлональный иммунный ответ, нацеленный на различные эпитопы. Антитела, демонстрирующие узкий спектр нейтрализации (narrow neutralizing antibodies; nNAbs) развиваются в течение первых месяцев после заражения, тогда как антитела, способные к нейтрализации широкого спектра вирусов (broadly neutralizing antibodies; bNAbs), начинают вырабатываться лишь несколько лет спустя, всего у 10–30% ВИЧ-инфицированных пациентов. В отличие от nNAbs, bNAbs защищают животных от экспериментального заражения и, вероятно, могут стать ключевым компонентом эффективной вакцины. Так, bNAbs, выделенные от ВИЧ-1-инфицированных лиц обладают более высоким уровнем защиты, по сравнению с nNAbs, к экспериментальным инфекциям ВИЧ-1 и СПИД. Несмотря на то, что nNAbs и bNAbs нацелены на идентичные области Env, иммуногены рекомбинантных гликопротеинов вирусных оболочек (rEnv) плохо распознаются glnNAbs (germline-reverted bNAbs), и соответствующими им рецепторами В-клеток (BCRs). Это свидетельствует о том, что отсутствие генерации bNAbs во время иммунизации, может возникать в результате неэффективной стимуляции рецепторов наивных В-клеток предшественников bNAbs. При этом мало что известно о распознавании иммуногенов rEnv наивными BCR предшественниками nNAbs. Понимание того, почему иммунные ответы В-клеток против эпитопов nNAbs преобладают над эпитопами bNAbs, в процессе иммунизации rEnv, позволит установить основные иммунологические механизмы конкуренции между эпитопами и предоставит новые данные, касательно разработки эффективной вакцины против ВИЧ-1. В рамках проведенного исследования, авторы определяли, могут ли glnNAbs различного клонального происхождения, ориентированные на участки связывания CD4 и V3-петли Env, также демонстрировать минимальное распознавание rEnv. Установлено, что в отличие от glnNAbs, glnNAbs способны распознавать различные рекомбинантные Envs. Кроме того, благодаря различиям в аффинности связывания, предшественники nNAbs рецепторов В-клеток обладают преимуществом при собственной активации и интернализации Env, по сравнению с BCR предшественниками bNAbs. Также авторами определена стратегия модификации Env, позволяющая минимизировать активацию В-клеток nNAbs за счет эпитопов, перекрываемых bNAbs. Таким образом, проведенное исследование предоставляет механистическое объяснение причин того, почему для распознавания иммуногенов rEnv используются нейтрализующие антитела узкого, а не широкого спектра действия. По мнению ученых, полученные результаты могут быть использованы при разработке вакцин не только против ВИЧ-1, но и, потенциально, против других патогенов.

А.В. Моисеев

## Кальций-зависимая протеаза как потенциальная мишень терапевтического воздействия при синдроме Вольфрама

A calcium-dependent protease as a potential therapeutic target for Wolfram syndrome. Simin Lu, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. E5292–E5301.

Генетическая или приобретенная дисфункция ЭПР может привести к различным общим заболеваниям, в том числе нейродегенерации, нарушению обмена веществ и воспалительным заболеваниям кишечника. Нарушение работы ЭПР также может быть вызвано генетическими расстройствами, такими как DIDMOAD-синдром (синдром Вольфрама). DIDMOAD-синдром представляет собой аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся двусторонней атрофией зрительного нерва и сахарным диабетом 1-го типа (ювенильным диабетом). Сахарный диабет, как правило проявляется в первое десятилетие жизни, в то время как диагностирование самого синдрома происходит неизменно позже — симптомы появляются во втором и последующих десятилетиях. Синдром представляет лучшую доступную в настоящее время модель заболеваний человека для выявления лекарств и биомаркеров, связанных с жизнеспособностью ЭПР. DIDMOAD-синдром обусловлен мутациями потери функции генов Wolfram syndrome 1 (*WFS1*) или Wolfram syndrome 2 (*WFS2*), кодирующих трансмембранные белки, локализованные в ЭПР. Кроме того, определенный вариант *WFS1* может привести к диабету с аутосомно-доминантным типом наследования, что повышает вероятность того, что столь редкое заболевание может иметь отношение к общим молекулярным механизмам многих хронических заболеваний человека. Несмотря на важность сбоя работоспособности ЭПР в синдроме Вольфрама, по-прежнему не установлен молекулярный механизм, связывающий дисфункцию ЭПР и гибель нейронов и бета-клеток. В рамках проведенного исследования, авторами установлено, что цитозольная кальций-активируемая цистеиновая протеаза кальпаин обеспечивает механистическую связь между ЭПР и гибелью бета-клеток и нейронов при DIDMOAD-синдроме. Кальпаин 2 представляет собой гетеродимер, состоящий из каталитической субъединицы CAPN2 и регуляторной субъединицы CAPNS1. Авторами установлено, что кальпаин 2 негативно регулируется геном *WFS2* — повышение его активации за счет нокдауна данного гена коррелирует с клеточной смертью. Кроме того, активация кальпаина 2 жестко регулируется содержанием цитозольного кальция, при посредничестве мутации потери функции гена *WFS1*. При этом, у пациентов с синдромами, отличными от DIDMOAD-синдрома, повышение уровня цитозольного кальция в панкреатических бета-клетках приводит к переходным или постоянным периодам гиперинсулинемической гипогликемии. Частичное восстановление возможно путем ингибирования АТФ-чувствительных калиевых каналов — за счет препятствования росту уровня цитозольного кальция. Хотя пациенты с синдромом не испытывают подобных приступов, использование низкомолекулярных соединений, способных изменить содержание цитозольного кальция, дает им надежду на выздоровление. Так, использование препарата «Дантролен» угнетает рианодиновые рецепторы и уменьшает утечку кальция из ЭПР в цитозоль. Таким образом, «Дантролен» и другие препараты, регулирующие гомеостаз кальция в ЭПР могут быть использованы для замедления прогрессирования синдрома Вольфрама и других заболеваний, в том числе сахарного диабета 1- и 2-го типа.

А.В. Моисеев



# МЕДИЦИНСКИЕ НАУКИ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ ·

## Клиническая медицина

### Сетевая динамика мозга и развитие эпилептического очага

Network dynamics of the brain and influence of the epileptic seizure onset zone. Samuel P. Burns, et al. PNAS. 2014. Vol. 49. P. E5321–E5330.

Эпилепсия обнаруживается у более, чем 60 миллионов людей по всему миру. Приблизительно у 40% пациентов эпилепсия не контролируется медикаментозно. Довольно часто таким пациентам показана резекционная хирургическая операция. Успех этой операции зависит от возможности локализовать зону очага эпилепсии. Для этого используется внутричерепная регистрация электрокортикограммы, проводимая в течение нескольких дней для обнаружения икталных событий. Специалисты инспектируют записи в периоды зарождения эпилептической активности и ищут характеристики зарождения очага эпилепсии на индивидуальных каналах (например, ритмическую спайковую активность, низко-вольтовую быструю активность и т. д.). Активность, детектируемая на отдельных каналах, находится под влиянием функциональных сетей, регистрируемых по многим другим каналам в соседних регионах мозга, а это трудно обнаружить, просматривая запись. Таким образом, обнаружение места зарождения эпилептического очага может быть затруднено у достаточно большого числа пациентов. В частности, не ясно, является ли появляющаяся структура активности функциональных сетей достаточно постоянной во время периодов эпилепсии и между ними. До настоящего момента связанность активности мозга изучалась с помощью регистрации внутричерепной электрокортикограммы только на коротких интервалах (от

десятков до нескольких сотен секунд) во время периодов эпилепсии или между приступами. В данной работе с целью исследовать пространственно-временные механизмы церебральной функции, использовался сетевой анализ записей электрокортикограмм, полученных с помощью субдуральных и погружных электродов у 12 пациентов с эпилепсией, неподдающейся медикаментозному лечению, проходящих процедуру предоперационной оценки. Связанность активности мозга измерялась непрерывно (каждую секунду) в периоды припадка, непосредственно перед припадком и между припадками в течение нескольких дней (в среднем около пяти). Для каждого пациента составляли кластеры всех обнаруженных отдельных сетей с помощью метода неконтролируемой классификации. Каждый электрод рассматривался как узел графа, а ребра между парами узлов оценивались на основе их когерентности в определенной полосе частот. Ведущий собственный вектор матрицы связанности, отражающий структуру сети, отслеживался в течение всего периода регистрации, и изменения его значений образовывали кластеры. Было обнаружено, что связанность сети имеет определенную структуру, и эта структура определяет окончательный набор состояний мозга. Также было установлено, что судорожная активность характеризуется постоянными последовательностями состояний. Непосредственно перед началом судорожной активности некоторый набор узлов изолируется от сети, а затем становится более связанным с сетью к окончанию судорожного припадка. Эти изолированные узлы с высокой специфичностью и чувствительностью указывают на зону очага судорожной активности. Таким образом, с помощью данного подхода можно успешно локализовывать очаги эпилепсии.

О.Е. Сварник

## ГУМАНИТАРНЫЕ НАУКИ · История и археология

### Одомашнивание кур раннего голоцена в Северном Китае

Early Holocene chicken domestication in northern China. Hai Xiang, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P.17564–17569.

Куры являются важнейшими представителями домашней птицы, однако об истории и географии их одомашнивания известно не так много. В данном исследовании представлен анализ митохондриальной ДНК из древнейших костей, обнаруженных в Китае и датированных 5–10 тысячелетием до н. э. по результатам масс-спектрометрии с применением ускорителя и стратиграфические данным. Была проведена ПЦР-амплификация фрагмента длиной 159 п. о. гена субъединицы I митохондриальной цитохром-с-оксидазы (COI) в 13 образцах. Затем вычисляли генетические расстояния между этими 13 последовательностями и 196 гомологами из 6 родов курообразных: *Gallus*, *Phasianus*, *Alectoris*, *Lophura*, *Tetraophasis* и *Syrmaticus*. Было показано, что все проанализированные кости, скорее всего, принадлежат представителям рода *Gallus*, а не других близких родов, например *Phasianus*. Также была выделена регуляторная последовательность длиной 326 п. о., представленная в 8 образцах из одних и тех же 4 районов Китая. Было построено выравнивание этих последовательностей с 10 известными последовательностями предков кур и 1001 последовательностью 4 современных видов рода *Gallus*. Так было обнаружено 266 гаплотипов банкивской джунглевой курицы; 13 гаплотипов других представителей рода *Gallus* (*G. varius*, *G. sonneratii*, *G. lafayetti*); 9 уникальных древних гаплотипов; 1 гаплотип, общий для современных домашних

кур и *G. sonneratii*; 3 гаплотипа, общих для современных домашних и древних кур и 1 гаплотип, общий для *G. sonneratii*, современных домашних и древних кур. Построение неукорененного филогенетического дерева по Байесу по этим 293 образцам выявило 8 дивергентных клад. Клада, включающая субклады *G. varius*, *G. sonneratii*, *G. lafayetti* оказалась наиболее удалена от остальных. Была установлена принадлежность древних образцов к *G. gallus* (домашние куры и банкивская джунглевая курица). Каждая древняя последовательность соответствовала какому-либо современному гаплотипу. Анализ географического распространения гаплотипов подтвердил генетическую общность древних организмов рода *Gallus*, населявших Северный Китай, и современных домашних кур. Тем не менее, на основании только генетических данных несправедливо утверждать, что обнаруженные кости принадлежат именно домашним, а не диким курам. Все же стоит учесть данные анализа гаплотипов и следующие факты: вместе с костями были найдены объекты, характерные для сельскохозяйственного общества; возраст образцов из Северного Китая различается на тысячи лет; подобные находки из других регионов моложе на тысячи лет. Полученные результаты позволяют предположить, что нижнее течение Хуанхэ в Северном Китае — один из первых районов появления домашних кур, наряду с Южной и Юго-восточной Азией. По данным анализа географического распространения гаплотипов, приручение кур в этих регионах происходило параллельно, и эти рано одомашненные куры внесли вклад в генофонд современных популяций, как и многие представители рода *Gallus*, особенно *G. gallus* и *G. sonneratii*. Результаты исследования говорят о раннем развитии сельского хозяйства на территории современного Северного Китая.

А.Л. Братцева

## ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Электротехника, электронная техника, информационные технологии

### Точная передача информации, основанная на динамике биохимических сигнальных систем

Accurate information transmission through dynamic biochemical signaling networks. Jangir Selimkhanov, Brooks Taylor, Jason Yao, et al. Science. 2014. Vol. 346. No 6215. P. 1370–1373.

Роль биологических систем передачи сигнала заключается в надежной передаче конкретной информации о внеклеточной среде к нижележащим эффекторам, что позволяет клетке регулировать свое состояние при смене условий. Стохастичность молекулярных взаимодействий, лежащая в основе различных форм «шума» в биологических системах, может препятствовать передаче сигнала и снижать качество передаваемой информации. Вопрос о том, как сигнальным системам удается выполнять свои основные функции в присутствии «шума» по-прежнему остается фундаментальным. Теоретико-информационный подход позволяет оценить максимально возможную пропускную способность передаваемого сигнала в зашумленных биохимических системах. Проведенный ранее анализ сигнальных систем с применением данного подхода позволил выдвинуть предположение, что в результате воздействия шума клетки теряют большую часть информации о концентрации лигандов. Кроме того, теоретико-информационный анализ сигнальных систем был основан на скалярных измерениях, выполненных в единичный момент времени. Тем не менее, информация о лигандах часто кодируется с использованием динамического сигнала, представленного в виде многомерного вектора, содержащего реакцию клетки во множестве временных точек. Для проверки гипотезы о том, что реакция клетки за определенный временной промежуток содер-

жит больше информации по сравнению с откликом в единственный момент времени, авторами выполнены измерения 3 ключевых сигнальных путей одиночных живых клеток — внеклеточной сигнальной регулируемой киназы (ERK), кальция ( $Ca^{2+}$ ) и транскрипционного фактора NF-κB (ядерный фактор «каппа-би»). Использование полностью автоматизированного компьютерного анализа изображений позволило оценить реакцию 910121 отдельных живых клеток. Столь большой размер выборки сыграл важную роль в процессе анализа многомерных откликов. При этом для всех рассмотренных сигнальных путей наблюдалась значительная вариабельность как динамических, так и нединамических откликов одиночных клеток в зависимости от концентраций активирующих лигандов. В рамках исследования проанализирована временная модуляция сигнала и ее способность снижать индуцированную шумом потерю информации. Авторами установлено, что вне зависимости от сигнального пути (ERK,  $Ca^{2+}$  и NF-κB), реакции клеток, измеренные в динамике, обладают значительно большей потенциальной пропускной способностью передачи сигналов по сравнению с откликами, полученными в единичный момент времени. Теоретический анализ показал, что динамика клеточной сигнализации играет ключевую роль в преодолении негативного влияния внешнего шума. Экспериментальные измерения передачи информации путем ERK при различных отношениях сигнал/шум подтверждают выдвинутое предположение — использование временной модуляции сигналов позволяет снизить, а потенциально — полностью устранить индуцированную внешним шумом потерю информации. Поскольку надежная передача информации является фундаментальной функцией клеточных сигнальных систем, вполне вероятно, что эволюционное давление изменяло клеточные механизмы в сторону увеличения надежности декодирования многомерных динамических сигналов.

А.В. Моисеев

## ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Медицинские технологии

### Сверхстабильные золотые субстраты для электронной криомикроскопии

Ultrastable gold substrates for electron cryomicroscopy. Christopher J. Russo, Lori A. Passmore. Science. 2014. Vol. 346. No 6215. P. 1377–1380.

Последние достижения в электронной криомикроскопии (крио-ЭМ) позволяют изучать структуру макромолекулярных комплексов практически на уровне атомарного разрешения. Однако более мелкие и неопределенные структуры требуют еще более высокого разрешения, необходимого для точного определения атомных позиций. Ограниченное качество микрофотографий связано с двумя основными факторами: 1) низкая эффективность детектора электронов; 2) подвижки образца во время облучения и связанная с этим нерезкость частиц, что не дает возможности свести между собой изображения для получения 3-мерной картинки. Именно второй фактор является причиной того, что структуры многих протеинов так до сих пор и не расшифрованы на основе крио-ЭМ. В основном подвижки образцов связаны с нестабильностью углеродного субстрата, который используется для поддержания замороженных образцов. Традиционно используемый субстрат из аморфного углерода испытывает деформацию и искривление во время облучения пучком электронов, что выражается как в параллельном, так и в перпендикулярном смещении относительно плоскости субстрата. Встраивание в структуру субстрата Ti-Si карбида легированного кремния или графена снижает величину подвижек, но полностью не решает проблемы. Авторы предлагают такой вид субстрата, который практически исключает вызванные облучением деформации тонкого, заключенного в лед, образца при криогенных температурах. Новый субстрат представляет собой диск диаметром 3 мм, выполненный из золотой перфорированной пленки толщиной ~ 500 Å с отверстиями микрометрового размера. Под перфорированной пленкой находится решетка с квадратными отверстиями стороной ~ 80 мкм также выполненная из золота. Конструкция отличается от традиционного субстрата из аморфного углерода только выбором материала и толщиной перфорированной пленки. Золото было выбрано из-за того, что это высокопроводимый, неокисляющийся, радиационно-стойкий материал, к тому же — химически инертный и биосовместимый. Еще одно преимущество изготовления пленки, и решетки из одного материала — это гарантия того, что при охлаждении от 300 до 80 К обе части субстрата поведут себя одинаково. Для получения криообразца на перфорированную пленку наносят разведенный водой протеин. После быстрой заморозки при ~ 80 К каждое отверстие золотого субстрата заполняется тонкой пленкой витрифицированного льда с заключенными в ней частичками протеина. Авторы показывают, что замена углерода золотом в поддерживающем субстрате практически исключает подвижки образцов при исследовании. Это позволяет повысить контраст субнанометрических изображений настолько, что видны  $\alpha$ -спирали отдельных протеинов. Используя предложенное усовершенствование авторам удалось определить структуру апоферритина — гладкой октаэдрической оболочки  $\alpha$ -спирального элемента. Раньше эта задача была непосильной для крио-ЭМ. Использование золотого субстрата даст возможность изучить структуру и других, ранее недоступных для изучения протеинов.

В.В. Стрекопытов

### Рассасывающиеся электронные устройства на шелковой основе для дистанционно управляемой терапии и уничтожении инфекции в организме *in vivo*

Silk-based resorbable electronic devices for remotely controlled therapy and *in vivo* infection abatement. Hu Tao, Suk-Won Hwang, Benedetto Marelli, Bo An, Jodie E. Moreau, Miaomiao Yang, Mark A. Brenckle, Stanley Kim, David L. Kaplan, John A. Rogers, Fiorenzo G. Omenetto. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17385–17389.

Смена парадигмы в использовании имплантируемых медицинских устройств заключается в соединении подхода восстановительной медицины, где с помощью целого класса биоматериалов моделируются определенные элементы и имплантируются в биологическую среду организма, с новейшими технологиями, позволяющими на базе самых современных биоразлагаемых материалов создавать оптические и электронные устройства. Такой союз биоматериалов и новейших технологий позволит создать целый класс биомедицинских устройств, которые будут действовать внутри организма *in vivo* на основе оптических или электронных принципов, а после выполнения своей функции бесследно рассасываться в запрограммированный период или по сигналу извне без вреда для человека. В работе описан принцип работы одного из таких дистанционно управляемых имплантируемых терапевтических устройств, нацеленного на уничтожение в организме мыши стафилококковой инфекции *Staphylococcus aureus*. Это беспроводное устройство было имплантировано под кожу мыши и дистанционно активировано после имплантации. Затем оно успешно уничтожило инфекцию и постепенно рассосалось в окружающих тканях. Данное исследование является первым шагом на пути создания целого класса технологичных имплантируемых биомедицинских устройств, которые после выполнения своих функций полностью растворяются без вреда для организма, не требуя повторной операции по их извлечению. Растворяется как защитная оболочка устройства, выполненная из протеинов шелка, так и все его электронные компоненты, состоящие из Mg и MgO. В ходе предварительных испытаний устройство полностью растворилось в процессе гидролиза в деионизированной воде при комнатной температуре в течение нескольких часов. Скорость растворения во многом зависит от степени кристаллизации защитного слоя из протеина шелка. Обычно для изготовления растворимых электронных устройств используют кремний, магний и их оксиды, и здесь уже скорость растворения зависит от молекулярного веса пленок, используемых в электронных схемах устройства. Такие управляемые извне, включаемые по мере необходимости растворимые устройства, несомненно, найдут очень широкое применение, в том числе как терапевтические устройства, которые могут быть оставлены в местах проведения операций или наложения швов для предотвращения развития послеоперационных инфекций; в устройствах для термальной и биохимической терапии; в системах медленного высвобождения лекарственных препаратов (как триггеры доставки препаратов), когда нужна отсрочка или очень медленное распространение антибиотиков во внутренних средах в случае глубоких инфекций или когда только одного систематического лечения антибиотиками недостаточно из-за возникновения в организме резистентных к антибиотикам штаммов.

В.В. Стрекопытов



## ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Медицинские технологии

### Использование объемной многофокусной микроскопии для получения многоцветных изображений клеточных структур в сверхвысоком разрешении

Whole-cell, multicolor superresolution imaging using volumetric multifocus microscopy. Bassam Hajji, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17480–17485.

Благодаря специфичности и способности получать изображения живых образцов, флуоресцентная микроскопия стала наиболее широко используемым инструментом в современной клеточной биологии. В последние годы, было представлено несколько методов способных увеличить разрешающую способность флуоресцентной микроскопии сверх дифракционного предела. Данные методы включают в себя стимулирование излучательных переходов в исследуемом веществе, структурированное освещение и локализационную микроскопию отдельных молекул. В последнем случае, контроль над условиями освещения позволяет активировать и детектировать одиночные флуоресцентные молекулы с чрезвычайно высокой пространственной точностью, вплоть до нескольких десятков нанометров. В результате этого возможна последовательная фотоактивация большого количества флуорофоров, которая в дальнейшем позволяет произвести подробную реконструкцию структуры исследуемого образца. Основными представителями описанного метода являются фотоактивируемая локализационная микроскопия (ФЛМ) и стохастическая реконструкционная оптическая микроскопия (СРОМ). Оба эти подхода имеют большое значение в клеточной биологии, но они до сих пор реализовываются в основном, путем использования явления полного внутреннего отражения быстро затухающей электромагнитной волны на границе раздела сред с раз-

ными показателями преломления. В результате накладывается ряд существенных ограничений, заключающихся в возможности получения изображений только крайне тонких мембранных или примембранных структур. Зачастую глубина локализации в этих случаях не превышает 1,2 мкм. Таким образом, трехмерные структуры целых клеток или хотя бы крупных органелл по-прежнему требует сбора данных с различных осевых позиций, что крайне негативно сказывается на качестве полученного изображения. Тем не менее, во многих биологических задачах в высшей степени желательно иметь доступ к пространственной внутриклеточной организации, дабы производить захват наноразмерной морфологии всей исследуемой клетки. В данной работе авторы рассматривают комбинированное использование многофокусной микроскопии вместе с ФЛМ и СРОМ в качестве одного из альтернативных методов получения объемного многоцветного изображения в сверхвысоком разрешении. При одновременной работе в девяти различных фокальных плоскостях в многофокусной микроскопии, удается произвести мгновенный захват распределения одиночных молекул (либо флуоресцентных белков или синтетических маркеров) по всему объему образца на глубину вплоть до 4 мкм, с точностью боковой и осевой локализации до 20 и 50 нм соответственно. Возможности многофокусной микроскопии в получении быстрых пространственных снимков внутриклеточных структур проиллюстрированы авторами в визуализации митохондриальных сетей млекопитающих и микротрубочек дрожжей в процессе клеточного деления. Подводя итог, авторы подтвердили эффективность представленного метода при решении задач связанных с получением объемных изображений биологических структур, также им удалось разработать несколько прикладных технических решений, реализация которых позволит в дальнейшем повысить качество получаемых данных.

В.Н. Раков

## ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Нанотехнологии

### Масштабное наноформирование ультрагладких трехмерных кристаллических металлических структур

Large-scale nanoshaping of ultrasmooth 3D crystalline metallic structures. Huang Gao, Yaowu Hu, Yi Xuan, Ji Li, Yingling Yang, Ramses V. Martinez, Chunyu Li, Jian Luo, Minghao Qi, Gary J. Cheng. Science. 2014. Vol. 346. No 6215. P. 1352–1356.

В настоящее время наноразмерные металлические структуры и их возможные применения исследуются в различных областях знания, таких как плазмоника, электроника и бионауки. Однако масштабное производство таких структур с высокой точностью и качеством (ультрагладкие границы, острые углы, трехмерные формы и высокая степень кристалличности) представляет собой значительную проблему. Для изготовления наноразмерных образцов полимеров используется нанолитография, которая адаптирована для металлических стекол, однако прямое наностампование кристаллических металлов, как правило, невозможно из-за ограничений на пластичность. Эти ограничения вытекают из флуктуаций пластичности на наноуровне, обусловленных локализованным увеличением концентрации дислокаций, размерными эффектами пластичности и размерами зерен, поскольку размер объекта должен быть больше размеров зерен. В настоящей работе сообщается об экономически эффективном, высокопроизводительном настольном методе ударного лазерного штампования (УЛШ), который позволяет формировать гладкие трехмерные кристаллические наноструктуры посредством создания деформации со сверхвысокой скоростью. В технологии УЛШ для вдавливания металлических листов в кремниевые матрицы различной формы используется лазерный удар. Матрицы использовались более ста раз без каких-либо повреждений или ухудшения параметров получаемых образцов. Ударное лазерное штампование делает возможным массовое производство трехмерных кристаллических металлических структур размером до 10 нм с ультрагладкой поверхностью в условиях окружающей среды. При этом на изготовление 6-дюймовой пластинки требуется 30 с при использовании лазерных импульсов с энергией от 150 до 250 мДж и частотой 10 Гц. Сверхвысокие скорости деформации при комнатной температуре позволяют преодолеть ограничения на пластичность для крупнозернистых металлов. Кроме того, технология УЛШ может применяться для широкого круга металлов, в том числе и обладающих высокой твердостью, например, для титана. Кристаллические наноструктуры, полученные путем УЛШ, имеют несколько особенностей, которые делают их подходящими для электронных, плазмонных и сенсорных применений. К таким особенностям можно отнести высокую точность изготовления и гладкие границы за счет лучшей пластичности и низкотемпературной обработки, возможность формирования трехмерных наноструктур с поперечными размерами до 20 нм и соотношением сторон до 5 при использовании кремниевых матриц, а также возможность улучшения характеристик приборов с металлическими наноструктурами благодаря возможному повышению электронной стабильности, снижению оптических потерь, уровня шума и сокращению потребляемой энергии. Таким образом, технология ударного лазерного штампования позволяет успешно изготавливать однородные наноструктуры большой площади для плазмонных и сенсорных применений, а также механически упрочненные наноструктуры и металл-графенные гибридные наноструктуры.

*Н.С. Прудских*

### Нанолиты из металлоорганических соединений в качестве строительных блоков для мембран на основе молекулярного сита

Metal-organic framework nanosheets as building blocks for molecular sieving membranes. Yuan Peng, et al. Science. 2014. Vol. 346. No 6215. P. 1356–1359.

Разделение газов мембранами является энергосберегающей и экологически чистой альтернативой криогенным и адсорбционным или абсорбционным процессам разделения газов. Примером компромисса между производительностью (проницаемостью) и эффективностью (селективностью), известного как верхняя граница Робсона, являются полимерные мембраны. Ожидается, что мембраны на основе молекулярных сит смогут преодолеть это ограничение благодаря способности различать молекулы в зависимости от их размера и формы. Слоистые металлоорганические соединения (МОС) могли бы служить разнообразными источниками кристаллических листов нанометровой толщины для молекулярных сит, если бы существовала технология их отслаивания с сохранением их морфологической и структурной целостности. В настоящей работе сообщается о получении из слоистых МОС листов толщиной 1 нм с большой площадью боковой поверхности и высокой степенью кристалличности. Они могут использоваться в качестве строительных блоков для ультратонких мембранных молекулярных сит с высокими параметрами проницаемости для водорода ( $H_2$ ) и селективности пропускания водорода и углекислого газа ( $H_2/CO_2$ ). Получение мембран для разделения водорода и углекислого газа считается одной из ключевых технологий для выработки электроэнергии из ископаемого топлива с нулевым уровнем выбросов и для производства водорода. В качестве примера МОС-прекурсора в данной работе использовалось полимерное соединение поли-[ $Zn_2(\text{бензимидазол})_4$ ], далее  $Zn_2(\text{бим})_4$ . В этой структуре двумерные слои связаны между собой слабыми ван-дер-ваальсовыми взаимодействиями. В таком слое каждый ион Zn координируется 4 лигандами бензимидазола (бим) в искаженной тетраэдрической геометрии, и каждый бим-лиганд связывает два атома Zn посредством бис-монодентатной связи. Обычное физическое отслаивание может привести к повреждению структуры в плоскости МОС-нанолистов. Мягкое химическое отслаивание потенциально является альтернативой данному методу, но требует химических веществ, которые могут негативно повлиять на применение нанолистов. Для решения этих проблем авторы разработали технологию мягкого физического процесса: сначала кристаллы  $Zn_2(\text{бим})_4$  помещают в шаровую мельницу при очень низкой скорости (60 об/мин), а затем отслаивают в летучем растворителе при помощи ультразвука. Полученные таким способом мембраны демонстрируют более высокие показатели, чем известные на сегодняшний день молекулярные сита, в том числе поликристаллические мембраны, состоящие из трехмерных МОС. В частности, для водорода достигает нескольких тысяч единиц газопроницаемости (ЕГП) с селективностью  $H_2/CO_2$  более 200. Обычно исследователи изготавливают более толстые мембраны с целью минимизации неселективных дефектов. Однако наблюдается обратная зависимость между проницаемостью и селективностью мембраны. Напротив, авторы данной работы нашли аномальную пропорциональную зависимость между  $H_2$ -проницаемостью и  $H_2$ -селективностью для таких мембран и добились одновременного увеличения и проницаемости и селективности, подавляя слоистую укладку нанолистов.

*Н.С. Прудских*

## ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Промышленные биотехнологии

### Вставка одного гена приводит к продукции биоспирта термококком

Single gene insertion drives bioalcohol production by a thermophilic archaeon. Mirko Basen, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17618–17623.

Производство основанного на спирте биотоплива в настоящее время осуществляется за счет ограниченного количества метаболических путей. Можно получать этанол путем конверсии глюкозы при помощи штаммов дрожжей, и этот процесс идет за счет монофункциональной алкогольдегидрогеназы. Другой путь был найден в некоторых анаэробных бактериях, где пируват, полученный из глюкозы, окисляется до ацетил-КоА, который затем редуцируется до этанола за счет бифункциональной алкогольдегидрогеназы. Производство биоспирта при температуре около 70 °С имеет некоторые преимущества перед более низкотемпературными процессами, в том числе низкий риск микробного заражения, более высокий уровень диффузии и снижение затрат при дистилляции. Однако очень немногие микроорганизмы, способные расти при такой температуре, могут также производить этанол из сахара. Никто из них не способен производить другие спирты, кроме этанола, а этанол они производят в очень небольших количествах. Термококк *Pyrococcus furiosus* живет при температуре около 100 °С и способна ферментировать сахара в ацетат, CO<sub>2</sub> и водород. Для получения продукции этанола авторы интегрировали в геном *P. furiosus* два гетерологичных гена из термофильной бактерии *Thermoanaerobacter* — бифункциональную алкогольдегидрогеназу AdhE и монофункциональную алкогольдегидрогеназу AdhA.

В результате авторы получили 3 штамма — E (содержащий *adhE*), A (содержащий *adhA*) и EA, содержащий оба этих гена. Проведенные эксперименты продемонстрировали, что только штамм A способен производить этанол в значимых количествах. Поскольку фермент AdhA способен производить этанол только из ацетальдегида, авторы предположили, что предшественником этанола у *P. furiosus* может быть ацетат, метаболизируемый ферментом альдегид-ферредоксин-оксидоредуктазой (AOR). Это предположение полностью подтвердилось в экспериментах с использованием меченного ацетата и при делеции гена, кодирующего AOR. При добавлении меченного ацетата *P. furiosus* при росте на мальтозе около половины получившегося этанола содержит метку. Кроме того, делеция гена, кодирующего AOR, полностью блокирует биосинтез этанола в штамме A. Полученный синтетический метаболический путь теоретически конвертирует 0,5 моль глюкозы в 1 моль этанола и 1 моль CO<sub>2</sub>, что сопровождается синтезом одной молекулы АТФ. Более того, AOR/AdhA путь также конвертирует экзогенно добавленные алифатические и ароматические карбоновые кислоты в соответствующие спирты, используя глюкозу, пируват и/или газообразный водород как восстановители. *P. furiosus* не может метаболизировать CO. Однако при гетерологичной экспрессии 16-генного оперона, кодирующего полный комплекс мембран-связанной углеродмонооксиддегидрогеназы из *Thermococcus onnurineus* штамм A стал способен использовать CO для продукции высокой концентрации спирта из соответствующих карбоновых кислот при 72 °С. Перенаправление ферментативного метаболизма *P. furiosus* на основе вставки чужеродных генов создает беспрецедентные возможности для высокотемпературного производства биоспирта.

Е.А. Кутукова

# ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ ·

## Технологии материалов

### Квантовый спиновый эффект Холла в двумерных дихалькогенидах переходных металлов

Quantum spin Hall effect in two-dimensional transition metal dichalcogenides. Xiaofeng Qian, Liang Fu, and Ju Li. Science. 2014. Vol. 346. No 6215. P. 1344–1347.

Материалы, демонстрирующие квантовый спиновый эффект Холла (КСХ), являются перспективными базовыми элементами современной квантовой электроники. Так, КСХ-диэлектрики характеризуются диэлектрическими свойствами в объеме и проводящими краевыми состояниями поверхности, для которых эффекты обратного рассеяния топологически запрещены симметрией инверсии времени. Квантование проводимости краевых состояний, характерное для КСХ-эффекта, экспериментально наблюдалось в квантовых ямах HgTe/CdTe и GaAs/GaSb. Однако применение КСХ-диэлектриков в квантовых электронных приборах затрудняется тремя неблагоприятными факторами: 1) малой величиной энергетической щели, вследствие чего операционный режим требует применения низких температур; 2) малым числом каналов проводимости ( $e^2/h$ ,  $e$  и  $h$  — заряд электрона и постоянная Планка) на одно краевое состояние; 3) отсутствием эффективных методов быстрого включения и выключения. В связи с этим является актуальным поиск КСХ-диэлектриков с широкой щелью и другими более подходящими характеристиками. С целью предсказания класса КСХ-диэлектриков с широкой щелью в работе проводятся расчеты «из первых принципов» (в рамках многочастичной теории возмущений) зонной структуры электронов в двумерных дихалькогенидах переходных металлов со структурой типа  $1T'$ , а именно  $1T'-MX_2$ , где  $M$  = вольфрам или молибден, а  $X$  = теллур, селен или сера. Предсказывается, что такие диэлектрики имеют ширину щели около 0,1 эВ в точках Дирака зонной структуры. Двумерные слои дихалькогенидов упаковываются в слои, связанные ван-дер-ваальсовыми силами. Геометрически их структура получается из структуры  $1H-MX_2$ , представляющей «сэндвич» из слоев гексагонально упакованных атомов  $X-M-X$  (упаковка типа АВА). В структуре  $1T-MX_2$  слои упаковываются в ромбоэдрическом порядке (АВС), а в  $1T'-MoS_2$  дополнительно образуются зигзагообразные цепочки в одном из планарных направлений. По физическим свойствам  $1T'-MoS_2$  представляет полупроводник с величиной энергетической щели 0,08 эВ, соответствующей волновому вектору  $k = \pm 0,146 \text{ \AA}^{-1}$ . Зона проводимости (ЗП) и валентная зона (ВЗ) имеют двугорбый вид вблизи точки  $\Gamma$  двумерной зоны Бриллюэна, причем каждая из них является симметричным отражением другой относительно линии нулевой энергии. В широкой части инвертированных зон ширина щели составляет 0,6 эВ. ВЗ образуется, главным образом, из  $d$ -орбиталей металла, а ЗП — из  $p$ -орбиталей халькогенида. Включение внешнего вертикального электрического поля порядка  $10^8 \text{ В/см}$  вызывает параметрическое усиление проводимости по краевым КСХ-каналам образца, быстро переводя его в состояние «включения» в результате топологического фазового перехода. Таким образом, создан прообраз топологического полевого транзистора.

Г.В. Дедков

### Аттосекундная динамика энергетической щели в кремнии

Attosecond band-gap dynamics in silicon. Martin Schultze, Krupa Ramasesha, C.D. Pemmaraju, S.A.Sato, et al. Science. 2014. Vol. 346. No 6215. P.1348–1352.

Переход электронов из энергетических состояний в валентной зоне в состояния зоны проводимости (ЗП) в полупроводниках под действием света является основой современной электроники. Однако накопление и взаимодействие носителей заряда в ЗП при возбуждении светом происходит слишком быстро, поэтому до сих пор эти процессы не удавалось наблюдать. Интерес к изучению процесса фотовозбуждения полупроводников вызван необходимостью преодоления ограничений, обусловленных конечной скоростью функционирования твердотельных устройств, с поиском возможностей их когерентного контроля и механизмов электрического пробоя. В работе рассматривается применение аттосекундной переходной УФ-спектроскопии (XUV) для изучения этих процессов в кремнии в реальной шкале времени. В предыдущих экспериментах удавалось отделить динамику электронов от динамики решетки только при небольшой интенсивности возбуждения или в условиях квантового запрета электрон-фононной связи. Наряду со спектроскопическими измерениями, в работе проводились также теоретические расчеты на базе нестационарного метода функционала плотности (TD-DFT). При низкой мощности импульса накачки в ближнем ИК-диапазоне электрон может преодолеть максимальную ширину щели (1,2 эВ в кремнии) с образованием фонона. При мощности выше  $10^{10} \text{ В/см}^2$  становится возможным прямозонное возбуждение электрон-дырочных пар при ширине щели 3,2 эВ, причем этот процесс является доминирующим. В этом случае фононы не образуются, но должны поглощаться несколько ИК фотонов или 1–2 оптических. В эксперименте электроны инжектировались в ЗП кремния с помощью накачки импульсным лазерным ИК излучением, а переходная динамика электронов исследовалась с помощью зондирующих ас импульсов излучения, настроенных на край уровня поглощения  $L_{2,3}$  кремния (99 эВ). Изменения плотности состояний электронов в ЗП вызывали изменение абсорбционной способности  $A$  и ее производной по энергии  $\partial A/\partial E$ . Зондирующие аттосекундные импульсы характеризовались длительностью менее 100 ас, энергией фотонов 80–125 эВ и пиковой величиной электрического поля  $(0,02-2)10^8 \text{ В/см}$ . Реакция электронов на внешнее возбуждение начиналась с задержкой 450 ас, в то время как временная шкала изменений ширины зоны из-за возбуждения фононов характеризовалась величиной  $60 \pm 10 \text{ фс}$  (при возбуждении самых быстрых оптических фононов). В результате эксперимента и проведенных квантоводинамических расчетов установлено, что при мощности излучения выше  $10^{12} \text{ Вт/см}^2$  основным механизмом возбуждения электронов является межзонное туннелирование, индуцируемое электрическим полем. Таким образом, динамика изменений ширины щели обусловлена электрон-электронными взаимодействиями в ЗП, а не является результатом перестройки кристаллической решетки.

Г.В. Дедков



## ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Технологии материалов

### Транспорт протонов через кристаллы толщиной в один атомный слой

Proton transport through one-atom-thick crystals. S. Hu, M. Lozada-Hidalgo, F. C. Wang, A. Mishchenko, F. Schedin, R. R. Nair, E. W. Hill, D. W. Boukhvalov, M. I. Katsnelson, R. A. W. Dryfe, I. V. Grigorieva, H. A. Wu, and A. K. Geim. Nature. Vol. 516. No 7530. P. 227–230.

Исследования графена расширяются, в частности, в связи с разработкой новых технологий разделения вещества. Графеновый лист атомарной толщины представляет собой максимально тонкую мембрану и способен обеспечить ультрабыстрое и высокоселективное просеивание газов, жидкостей, жидкостей, растворенных ионов и других частиц. Однако при комнатной температуре графен непроницаем для всех атомов и молекул (в том числе и для водорода). Лишь атомы, имеющие достаточно высокую кинетическую энергию, способны пройти через электронное облако графена. Аналогичное поведение ожидается и для атомно-тонких мембран других кристаллов. В работе сообщается об исследовании транспорта протонов через монослои графена, нитрида бора гексагональной модификации (hBN) и дисульфида молибдена (MoS<sub>2</sub>). 2D-кристаллы получались микромеханическим сколом и подвешивались над отверстиями микрометрового размера, вытравленными в пластинах кремния. Свободностоящие мембраны проверялись на отсутствие отверстий и дефектов, и покрывались с двух сторон полимером (Nafion), обладающим высокой протонной и низкой электронной проводимостью. На обеих сторонах структуры поверх полимера напылялись электроды PdHx, через которые инжектировались протоны. Для проведения электрических измерений образцы помещались в атмосферу H–Ar при влажности 100 %, что обеспечивало высокую проводимость полимерных пленок. Измеренный протонный ток  $I$  линейно изменялся с напряжением  $U$ , причем кондактанс  $S = I/V$  был пропорционален площади  $A$  мембран. Оказалось, что монослои графена и hBN проницаемы для протонов при комнатной температуре, в отличие от монослоев MoS<sub>2</sub>, а также бислойных и многослойных мембран всех указанных типов. Энергетические барьеры  $E$  для прохождения протонов находились путем измерения зависимости проводимости  $\sigma = S/A$  от температуры  $T$ , имевшей вид закона Аррениуса:  $\sigma \sim \exp(-E/kT)$ , где  $k$  – постоянная Больцмана). Проводимость полимера, как отмечают авторы, не вносила существенного вклада в величину  $\sigma$ . В результате измерений самая низкая энергия активации (0,3 эВ и 0,6 эВ) наблюдалась для моно- и бислойных мембран hBN. Для монослойной мембраны графена энергия активации протонной проводимости составляла  $0,78 \pm 0,03$  эВ. Интересно, что из теоретических *ab initio* расчетов методом молекулярной динамики вытекает более высокое значение энергии активации (1,2–2,2 эВ). Мембраны графена и hBN большой площади коммерчески доступны и могут использоваться, например, при сепарации молекул водорода из воздуха.

Г.В. Дедков

### Создание формы и структуры материалов с помощью фрактальной резки

Engineering the shape and structure of materials by fractal cut. Yigil Cho, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17390–17395.

Рассмотрена трансформация листового материала в разнообразные формы и рисунки с помощью набора простых резов с многоуровневой иерархией и разными схемами. Каждая схема иерархической резки и уровень реза раскрывает лист в уникальную структуру с уникальным набором свойств. Возможно реверсивное проектирование от требуемой раскрытой геометрии к необходимой для ее возникновения схеме резов при неизменных физических свойствах исходного материала. Для простоты был рассмотрен исходный материал в виде гибкого плоского листа, который разрезами согласно схеме на квадратные модули. Модули между разрезами могут считаться жесткими, тогда как соединения между ними практически соответствуют петле (свободное вращение вокруг оси). Таким образом, деформация структуры (растяжение вдоль одной, или двух осей) возникает в основном в виде поворота модулей друг относительно друга, а не из-за деформации самих модулей. Морфология финального состояния материала определяется равновесием моментов. Для каждой структуры есть максимальная величина растяжения, после которой начинается деформация модулей. Это состояние не рассматривалось. Идеальный фрактально разрезанный материал рассмотрен как система жестких модулей, связанных свободно вращающимися петлями. Проанализирована вариация как схемы резов, так и иерархической структуры, на примере квадратного модуля. Показано, что раскрытие резов на более низком уровне иерархии идет после раскрытия их на более высоком уровне. Для неидеального фрактально разрезанного материала рассмотрено наличие жесткости в «петлях»; отмечено, что поведение петель определено балансом жесткости и предела их разрушения. Важными качествами получаемого материала являются отсутствие растяжений (кроме региона петель), отсутствие коробления, в силу чего не изменяются свойства и характер функционирования объектов, размещенных на модулях. В качестве демонстратора концепции создан электрод, расширяющийся до >800% от исходной площади. Лист силикона с нанесенной на него проводящей пленкой карбоновых нанотрубок, разрезанной в трехуровневый иерархический мотив, и смонтированным на одном из модулей светодиодом натягивался на шар, и светодиод продолжал гореть. Экспериментальные результаты показывают, что реальные системы хорошо описываются идеальной моделью, несмотря на конечный размер связей между модулями и наличие в них напряжений (то есть, не идеальный характер системы). Обобщенный характер примененного подхода расширяет возможности разработки материалов для разных прикладных задач. Отмечена потенциальная возможность расширения рассмотренного метода на другие двумерные, в частности — треугольные, модули, а также возможность формирования трехмерных фрактально разрезанных структур с помощью 3D-печати.

А.В. Якименко

## ТЕХНИКА И ТЕХНОЛОГИИ · Экологические технологии

### Выяснение причин образования сильнейшего смога в городах Китая

Elucidating severe urban haze formation in China. Song Guo, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17373–17378.

В последнее время количество взвешенных тонкодисперсных частиц (PM) в атмосфере многих городов Китая достигло беспрецедентно высоких значений. Города второй по величине экономики мира буквально задыхаются от смога. Понимание механизма образования в атмосфере городов аэрозольной взвеси PM<sub>2,5</sub> (мелких твердых примесей с аэродинамическим диаметром до 2,5 мкм) является важнейшей задачей, решение которой позволит выработать эффективные меры для снижения региональных и глобальных последствий этого вида загрязнения окружающей среды. В работе рассматриваются сходства и различия в процессах образования атмосферных тонкодисперсных взвесей в городах Китая и в других регионах мира. На основе анализа концентраций PM<sub>2,5</sub> в атмосфере Пекина делается вывод о том, что циклическая периодичность всплесков образования PM<sub>2,5</sub> связана с метеорологическими условиями. При этом в начале каждого цикла наблюдается так называемый «чистый» период, когда концентрации PM<sub>2,5</sub> не превышают 50 мкг/м<sup>3</sup>. Затем в течение 2–4 дней концентрации резко нарастают, достигая нескольких сотен мкг/м<sup>3</sup>. Если химический состав частиц, образующих смог в Пекине, примерно соответствует химическому составу частиц по всему миру (типичный набор составляющих, характерных для вторичных аэрозолей), то процессы эффективного зарождения (нуклеации) PM<sub>2,5</sub> и продолжающегося в течение длительного периода роста частиц существенно отличаются от процессов образования атмосферных аэрозолей в других частях планеты. Было выяснено, что основную роль в образовании смога в городах Китая играют вторичные аэрозоли. Их дисперсная взвесь образуется в процессе химических реакций, в ходе которых происходит преобразование газа в твердую фазу. Роль первичных аэрозолей в образовании смога невелика. Незначительна и роль такого фактора как региональный транспорт. Показано, что образованию видимой дымки предшествует так называемый период нуклеации («чистый» период), когда происходит укрупнения размеров тонкодисперсных частиц путем объединения в более крупные частицы огромного количества наночастиц. Рост частиц продолжается в течение нескольких дней, а сами частицы достигают очень крупных размеров. В этот период цикла рост концентраций PM<sub>2,5</sub> составляет 50–100 мкг/м<sup>3</sup> в день, а сами частицы ежедневно увеличиваются на 40–65 нм. Продолжительность периода роста частиц и их крупные конечные размеры — главное отличие наблюдаемого в Китае процесса от процессов образования атмосферных аэрозолей в других регионах мира. Главными факторами, провоцирующими массовое образование вторичных аэрозольных взвесей, являются выхлопные газы городского транспорта и промышленные выбросы. Ключевую роль здесь играют газообразные выбросы летучих органических соединений и окислов азота выхлопных газов, а также диоксид серы промышленных выбросов предприятий, и именно контроль этих источников загрязнений является основной задачей в защите городов Китая от смога.

В.В. Стрекопытов

### Непредвиденная сезонность глобальных выбросов хладагентов HCFC-22 и HFC-134a

Global emissions of refrigerants HCFC-22 and HFC-134a: Unforeseen seasonal contributions. Bin Xiang, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17379–17384.

HCFC-22 (хлордифторметан, CHClF<sub>2</sub>) и HFC-134a (1,1,1,2-тетрафторэтан, CH<sub>2</sub>FCF<sub>3</sub>) являются на сегодняшний день двумя основными газами, используемыми в глобальном масштабе в качестве хладагентов в бытовых и коммерческих холодильниках и кондиционерах. Эти хладагенты пришли на смену применявшемуся ранее в качестве основного хладагента CFC-12 (дифтордихлорметану), обладающему высокой озоноразрушающей активностью, производство и использование которого было ограничено Монреальским протоколом. Однако и хладагенты нового поколения не являются экологически безопасными, хотя озоноразрушающая способность HCFC-22 в 20 раз ниже, чем у CFC-12. Сейчас известно, что HCFC-22 все-таки влияет на разрушение озонового слоя Земли, и что и HCFC-22, и HFC-134a являются мощными парниковыми газами. В работе приведены результаты анализа атмосферных наблюдений, проводимых в течение 3 лет *in situ* с борта самолета в воздушном пространстве над Тихим океаном. Каждый цикл полетов продолжался около 1 мес, охватывая практически всю территорию над Тихим океаном от полюса до полюса. Аэровоздушные наблюдения подкреплялись данными долгосрочных наземных наблюдений, полученных от Национального управления океанических и атмосферных исследований (NOAA) и в рамках программы Расширенный эксперимент по глобальным атмосферным газам (AGAGE). Результаты наземных и воздушных наблюдений показали хорошую сходимость. Выяснилось, что общие ежегодные глобальные выбросы HCFC-22 и HFC-134a существенно выросли за последние два десятилетия. Рост HFC-134a только за период 2009–2012 гг. составил 60%, существенно превысив значения, согласованные в Рамочной конвенции ООН об изменении климата (UNFCCC — редакция 2000 г.). Обнаружилось также, что выбросы этих газов в атмосферу носят явно выраженный сезонный характер, при котором летняя эмиссия в 2–3 раза превышает зимнюю. Эти неожиданно большие сезонные вариации указывают на то, что в ранее сделанные оценки величин эмиссии хладагентов нужно вносить сезонные корректировки. Причинами сезонного увеличения выбросов хладагентов в летнее время могут быть: 1) более высокое давление пара в контурах охлаждающих систем при более высоких летних температурах; 2) более частое использование и обслуживание холодильников и кондиционеров в летние месяцы. В качестве мер по снижению выбросов хладагентов в атмосферу предлагаются: 1) разработка новых инженерных решений охлаждающих систем (более устойчивых к высоким температурам и вибрациям герметичных контуров систем) и дизайна новых, более компактных и эффективных компонентов систем; 2) ужесточение нормативных стандартов сервисного обслуживания охлаждающего оборудования.

В.В. Стрекопытов

## СОЦИАЛЬНЫЕ НАУКИ · Психологические науки

### Влияние грамотности на скорость визуальной обработки

Timing the impact of literacy on visual processing. Felipe Pegado, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. E5233–E5242.

Умение читать является важным навыком современного человека. Быстрое декодирование звучания и смысла написанных слов требует навыка эффективного и быстрого распознавания элементов письменного текста со скоростью превышающей 100 слов/мин. Как грамотность (умение читать) влияет на перцептивный процесс зрительной обработки? Предполагается, что практика чтения в раннем возрасте может способствовать развитию перцептивного эффекта обучения, отражающегося на способности мозга к ранней (первичной) визуальной обработке информации. Исследуя с помощью метода функциональной магнитно-резонансной томографии (фМРТ) людей разного уровня грамотности, авторы ранее уже демонстрировали, что наличие навыка чтения влияет на активизацию как высоко-, так и низкоуровневых затылочно-височных областей, отвечающих за визуальную обработку, но не могли оценить временные параметры этого эффекта. Чтобы выяснить, влияет грамотность на ранние или на поздние стадии визуальной обработки, были оценены ответные потенциалы разных категорий визуальных стимулов у здоровых взрослых людей различного уровня грамотности: абсолютно неграмотных субъектов, грамотных с детства и обучившихся чтению уже в зрелом воз-

расте (экс-неграмотных). Визуальные стимулы включали в себя элементы письменных букв, объединенных в псевдо-слова, фальшивые шрифты, а также изображения лиц, домов, инструментов, шахматных досок. Чтобы точнее оценить воздействие стимулов, они показывались парами с повторяющимися, отзеркаленными или несвязанными изображениями из той же категории. Результаты исследования показали, что способность к чтению коррелирует со значительно более высоким уровнем ранней визуальной обработки, включая более эффективное подавление повторов, лучшее нахождение различий среди схожих изображений, лучшее распознавание зеркальных образов, при активации левой затылочно-височной области. Фиксируя мозговой отклик на визуальные стимулы, авторы получили в высоком временном разрешении картину того, как люди разного уровня грамотности различаются по времени первичного отклика. Результаты показывают, что время первичного отклика у грамотных людей было значительно меньше (100–150 мс), чем у остальных групп. Кроме того, объем, точность и инвариантность ранней визуальной обработки у них была выше, чем у экс-неграмотных, и существенно выше, чем у абсолютно неграмотных. Выше у них был и уровень последующей нейронной активности. Эффект грамотности проявился не только для таких категорий визуальных стимулов как элементы письменных букв и фальшивые шрифты (что было вполне ожидаемо), но и для других категорий визуальных стимулов, что подтверждает влияние наличия навыка чтения на качество ранней визуальной обработки любой визуальной информации.

*В.В. Стрекопытов*

## СОЦИАЛЬНЫЕ НАУКИ · Социальная и экономическая география

### Филогенетическая реконструкция системы родства народов банту ставит под сомнение теорию главной последовательности социальной эволюции человека

Phylogenetic reconstruction of Bantu kinship challenges Main Sequence Theory of human social evolution. Christopher Opie, et al. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17414–17419.

Переход от первобытнообщинного строя к сельскохозяйственному обществу, произошедший в глобальном масштабе в неолитическую эпоху, оказал решающее влияние на все стороны жизни человеческого общества. Для социальных групп охотников-собирателей была характерна более гибкая родовая структура родственных отношений с билатеральными родственными связями и свободным порядком проживания, тогда как для сообщества земледельцев и скотоводов свойственна уже более крепкая и устойчивая система отношений, основанная на понятии семьи и линейного родства. К сожалению, не так легко восстановить в деталях весь процесс перехода от одной системы отношений к другой по мере распространения сельскохозяйственных технологий. В частности, отсутствуют археологические свидетельства, дающие однозначное представление о таких основополагающих принципах жизни общества в переходный период как принцип наследования имущества и правила, определяющие, в чьей семье будут жить молодожены после свадьбы. А происхождение (линия родства) и правила послебрачного поселения, согласно господствующим социологическим теориям, определяют остальные ключевые факторы взаимоотношений в обществе — выбор союзников, торговых и брачных партнеров и т. д. Авторы исследования с помощью Байесовского метода филогене-

тического анализа языковых ветвей народов банту, проживающих на обширной территории к югу от Сахары, проследили эволюцию родовой структуры этих народов и определили, как по мере распространения сельскохозяйственных технологий в субсахарской Африке менялись главные факторы системы родственных отношений — так называемый счет происхождения и правила послебрачного поселения. Родовая система народов банту начального периода распространения сельскохозяйственного общества является предметом горячих споров. Одни исследователи утверждают, что в голоцене в субсахарской Африке господствовала система родства по материнской линии (матрилинейная десцентная система), и мужчина после свадьбы переходил жить в семью жены (матрилокальное поселение). Другие настаивают на том, что система линейного родства на этой территории появилась намного позже. Результаты исследования выявили факты неоднократной смены систем родства у народов банту по мере распространения среди них сельскохозяйственных отношений. Изменения затрагивали как счет происхождения, так и правила поселения. Для первых родовых сообществ банту был свойственен линейный характер родства по отцовской линии (патрилинейная десцентная система) с проживанием жены в семье мужа (патрилокальное поселение). Затем, в ходе филогенеза, фиксируются факты, когда матрилинейное происхождение становилось решающим, и оно определяло смену правила поселения с патрилокального на матрилокальное, а возвращение к патрилокальному поселению опять возвращало сообщество к патрилинейному родству. Полученные данные ставят под сомнение теорию главной последовательности Дж. П. Мердока, согласно которой правила послебрачного поселения являются первичным фактором, определяющим как счет происхождения, так и все последующие изменения в других социальных структурах общества.

В.В. Стрекопытов



## СОЦИАЛЬНЫЕ НАУКИ · Социологические науки

### Когда контакт меняет точку зрения: эксперимент по распространению мнения в поддержку равенства геев

When contact changes minds: An experiment on transmission of support for gay equality. Michael J. LaCour, Donald P. Green. *Science*. 2014. Vol. 346. No 6215. P. 1366–1369.

Среди теорий устранения предубеждений есть так называемая теория контакта, утверждающая, что враждебный настрой к представителям другой группы легче снимается при прямом контакте между представителями разных групп. Задачей исследования было выяснить, можно ли добиться этого эффекта при коротком, ограниченном временными рамками, контакте, можно ли изменить точку зрения собеседника с помощью простой беседы с представителем, придерживающимся другого мнения, а затем еще и «распространить» это изменившееся мнение собеседника на его ближайшее окружение. Суть эксперимента заключалась в том, что опрашивающие просто беседовали с участниками эксперимента на пороге их дома на две темы: 1) однополые браки; 2) переработка отходов (рециклинг). Тема рециклинга выполняла роль плацебо. Участники предварительно набирались и регистрировались через Интернет. Выборка состояла из жителей Юж. Калифорнии, проживающих в отдельных домах на территории тех участков голосования, которые в 2008 г. выступили за запрет однополых браков. Всего в эксперименте приняли участие представители 972 домохозяйств и 41 опрашиваемый (22 из них были геи). До начала полевого эксперимента был выявлен первичный уровень отношения к про-

блемам. Это было сделано с помощью опросника из 50 вопросов, разосланного зарегистрированным участникам, в котором 2 вопроса на темы однополых браков и общего отношения к геям были спрятаны среди вопросов на другие отвлеченные темы. Таким образом, у респондентов не было предварительной идеи относительно темы будущего визита опрашивающих. Результаты, полученные в ходе независимого панельного исследования, показали, что первичный эффект достигался по обоим вопросам при общении как с геями, так и опрашиваемыми традиционной ориентации. Но только у тех, с кем общались геи, эффект изменившегося мнения по вопросу однополых браков сохранялся через 3 недели, 6 недель и 9 месяцев. Была также зафиксирована трансляция изменившегося мнения внутри домохозяйства, но, опять же, только там, где имела место беседа с опрашиваемыми-геями. Последующие исследования подтвердили для этой группы респондентов наличие длительного и распространяющегося на их ближайшее окружение эффекта устойчивого изменения отношения к геям и лесбиянкам в целом. Исследование также показало, что устойчивое изменение мнения происходит только при активном контакте с представителем другой группы мнений. Активный контакт характеризуется тем, что представители двух разных групп мнений беседуют именно на спорную тему, в отличие от пассивного контакта, когда они заняты совместной деятельностью или беседуют на отвлеченные темы (в данном случае это была тема рециклинга). При этом продолжительность беседы не имела существенного влияния на результат. Эксперимент показал, что короткий активный контакт с представителем другой группы мнений способен инициировать каскадный процесс устойчивого во времени изменения мнения.

*В.В. Стрекопытов*

## СОЦИАЛЬНЫЕ НАУКИ · Экономика и бизнес

### Крах сотрудничества в эволюционных играх

Collapse of cooperation in evolving games. Alexander J. Stewart, Joshua B. Plotkin. PNAS. 2014. Vol. 111. No 49. P. 17558–17563.

Исследование предлагает новый взгляд на извечный вопрос: когда возникает кооперация в природных системах? В природе многие организмы вступают во взаимовыгодные отношения, а отдельные особи стремятся к сотрудничеству с целью снижения индивидуальных рисков, вкладывая при этом в кооперацию определенные собственные ресурсы. Применяя положения теории игр можно произвести количественную оценку поведения рациональных агентов. Для количественного изучения этой модели поведения была построена общая схема коэволюции стратегий и платежей в произвольных итерационных играх. В эволюционирующих популяциях сотрудничество обычно одерживает верх над обманом — через взаимность и великодушие. Но что случится, если участники смогут влиять не только на свое стремление к сотрудничеству (стратегию), но и на размер вознаграждения за сотрудничество? Обычно в качестве стандартной модели для изучения выбора между сотрудничеством и обманом используют модель Повторяющейся (итерационной) дилеммы заключенного (ПДЗ), в рамках сценария которой сотрудничество возникает как закономерный логический результат эволюции популяций. Авторы расширили рамки эволюционной

теории игр, позволив игрокам, выбирая те или иные наследственные мутации, влиять и на выбор стратегий, и на платежи. Используя подход эволюционных игр с двумя участниками, была получена матрица парадоксальных результатов. Проанализировав коэволюцию стратегий и платежей, авторы обнаружили, что стремление каждого из игроков к максимизации индивидуального выигрыша от сотрудничества часто ведет к быстрому краху кооперации. Когда существует компромисс между выгодами от сотрудничества и стоимостью самого сотрудничества, развитие событий в рамках сценария ПДЗ ведет к прекращению сотрудничества. Отказ от сотрудничества происходит даже тогда, когда потенциальное вознаграждение за взаимное сотрудничество возрастает, а это уже ведет к снижению среднего выигрыша для всей популяции. В зависимости от форм выбранных компромиссов, эволюция может увести игру далеко от сценария ПДЗ. Результаты работы открывают новые перспективы использования модели «дилемма заключенного» для прогнозирования кооперации в природных популяциях, а проведенный анализ может служить основой для понимания коэволюции стратегий и платежей в итерационных игровых взаимодействиях, свидетельствуя о том, что поддерживать сотрудничество сложнее, чем считалось ранее. В частности, сотрудничество всегда терпит крах, когда в модели заложена снижающаяся доходность от взаимной кооперации. Обратный вариант вряд ли возможен, т. к. не бывает условий, когда выгода от сотрудничества безгранично возрастает.

*В.В. Стрекопытов*

**СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ НАУКИ ·****Сельское хозяйство, лесное хозяйство, рыбное хозяйство****Роль крупномасштабных сельскохозяйственных изменений в исчезновении жалоносных насекомых-опылителей в Британии**

Extinctions of aculeate pollinators in Britain and the role of large-scale agricultural changes. Jeff Ollerton, et al. *Science*. 2014. Vol. 346. No 6215. P. 1360–1362.

Роль насекомых-опылителей чрезвычайно важна как с точки зрения поддержания видового разнообразия в экосистемах, так и для продуктивности сельского хозяйства. Используя исторические записи, авторы попытались оценить темпы исчезновения различных видов пчел и цветочных ос в Британии в период с сер. XIX в. до наших дней. Британия обладает очевидно самой подробной в мире базой данных по видам насекомых, т. к. здесь регулярно ведутся наблюдения специальным Обществом по регистрации пчел, ос и муравьев (BWARS). Исчезнувшими считаются виды, которые отсутствуют в наблюдениях более 20 лет. За все время наблюдений в Британии исчезли 33 вида пчел и цветочных ос, включая некоторые ранее широко распространенные виды. Для количественной оценки темпов исчезновения видов насекомых-опылителей весь массив данных был подвергнут анализу по контрольным точкам. С помощью кусочно-линейной регрессионной модели были выявлены периоды относительно стабильных темпов вымирания, разделенные так называемыми контрольными точками, в которых этот темп менялся. В конце концов были выделены 3 главные кон-

трольные точки, разделяющие весь XX век на 4 периода, внутри которых скорость вымирания была более или менее стабильной. Максимальной эта скорость была в период с кон. 20- до кон. 50-х гг. прошлого столетия. Ранее считалось, что периодом массового сокращения видового разнообразия в Британии является так называемый период интенсификации сельского хозяйства, начавшийся перед Второй мировой войной, а закончившийся в нач. 1950-х гг. Но анализ показал, что самые высокие темпы исчезновения видов были характерны для нач. 1920-х гг., когда происходили крупномасштабные изменения в сельскохозяйственной политике и появлялись новые практики земледелия. Замедление темпов исчезновения видов, начиная с 1960-х гг. до наших дней, скорее всего, связано с тем, что большинство наиболее чувствительных видов к этому моменту уже исчезли. К тому же, с этого времени начали действовать экологические программы, направленные на сохранение видов. Что касается причин исчезновения конкретных видов, то иногда критические точки совпадают по времени с конкретными событиями (завоз во второй половине XIX в. гуано из Южной Америки в качестве удобрения, резкое сокращение на 55% площадей пахотных земель и посевов зерновых культур в кон. XIX — нач. XX вв., сельскохозяйственные реформы в Британии, проведенные после Первой мировой войны, изобретение процесса Хабера и начало использования в промышленных масштабах неорганических азотных удобрений), но чаще мы имеем дело с целым клубком как природных, так и антропогенных причин, включая климатические изменения, распутать который не просто.

*В.В. Стрекопытов*

## МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Ультравысокочувствительный механический сенсор, основанный на принципе щелевых соединений, разработанных по аналогии с сенсорной системой пауков

Ultrasensitive mechanical crack-based sensor inspired by the spider sensory system. Daeshik Kang, et al. Nature. Vol. 516. No 7530. P. 222–226.

Современные разработки в области гибких механосенсоров, основанных на неорганическом силиконе, органических полупроводниках, углеродных нанотрубках, графеновых пластинках, чувствительной к давлению резине или автономных приборах, показывают, что такие сенсоры должны обладать по крайней мере двумя свойствами: быть высокочувствительными и совместимыми с человеческой кожей. Однако развитие многофункционального сенсора, удовлетворяющего требованиям ультравысокой механической чувствительности, гибкости и износостойкости, остается сложной задачей. В природе существует решение этой задачи. Пауки могут чувствовать крайне маленькие изменения давления и вибрацию при помощи лировидных органов, представляющих собой небольшие чувствительные щели в кутикуле, расположенные на ногах. Геометрия этих щелей позволяет детектировать крайне незначительные смещения посредством механической растяжимости, которая приводит к деформации щели в ответ на маленькие вариации внешних сил. В данной статье приводится описание мультифункционального сенсора, основанного на наноразмерных щелевых соединениях («нанощелевой сенсор») и сконструированного по аналогии с механочувствительными органами пауков. Сенсор представляет собой напыление жесткого платинового слоя толщи-

ной 20 нанометров поверх вязкоупругого полимера (полиуретан-акрилата 14). По аналогии с лировидными органами пауков, в платиновом слое контролируемым образом генерируются трещины или щели с определенной плотностью и в определенном направлении. В слое замеряется электрическая проводимость и работа сенсора зависит от плотности щелей. Такой сенсор обладает ультравысокой чувствительностью к внешним силам и может быть использован для самых разных целей. Сенсоры обладают чувствительностью к натяжению (коэффициент тензочувствительности — более 2000 в диапазоне 0–2% натяжения) и вибрации (возможность детекции амплитуд величиной 10 нм). Ультравысокая механическая чувствительность связана с процессами размыкания-замыкания, происходящими в наноразмерных щелевых соединениях (напоминающих застежку-молнию) при натяжении или вибрации. Прибор, созданный на основе такого сенсора, является механически гибким, легко воспроизводимым, износостойким. Он представляет собой электронную мультипиксельную решетку и может быть легко размещен на коже человека. В данной работе также описывается теоретическая модель, на основе которой исследовались свойства данного сенсора, например зависимость проводимости от натяжения. Полученные на основе модели данные не противоречили данным, полученным эмпирически. Также было показано, что такой сенсор обладает ультравысокой чувствительностью к физиологическим сигналам (например, к паттернам речи или к частоте сердечных сокращений). Кроме того, щелевой сенсор способен детектировать вибрации, вызванные звуковыми волнами, и может функционировать как звуковой монитор. Таким образом, наноразмерная щелевая сенсорная система может быть полезна для самых различных применений, где требуется ультравысокая чувствительность к смещению.

*О.Е. Сварник*