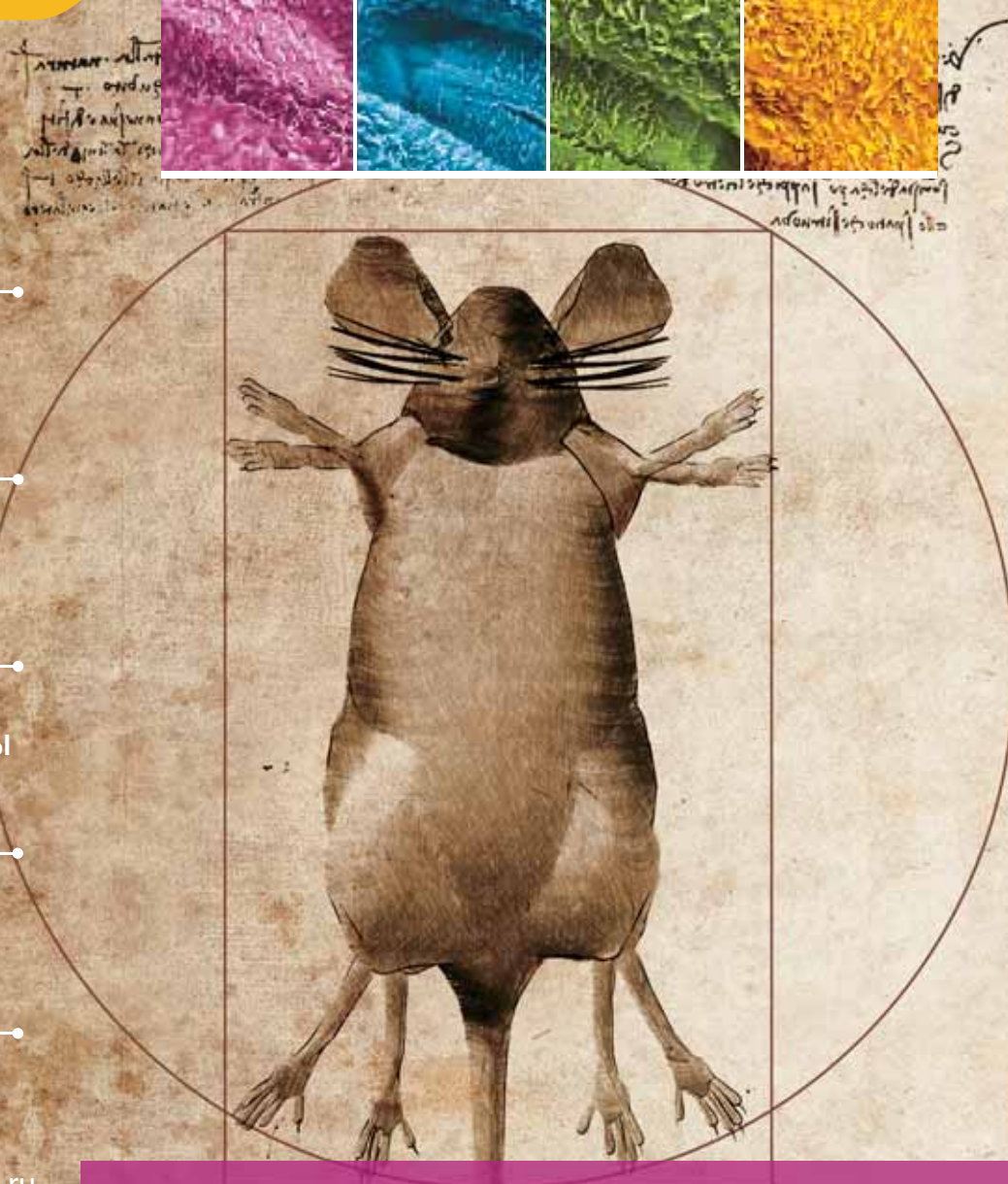
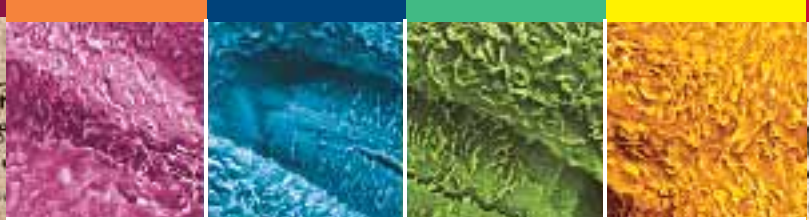


Познавательный журнал для хороших людей

НАУКА

из первых рук

4 4⁽²²⁾ 2008



В МОНГОЛИЮ ЗА
РУССКИМ ЗАТМЕНИЕМ

ЧТО ПЧЕЛЫ ЗНАЮТ
О ЦВЕТАХ

ВОЛШЕБНЫЕ КАРТИНЫ
МИКРОКОСМА

МОЙ А П

www.sciencefirsthand.ru



ГЕРОИ ПОСТГЕНОМНОЙ ЭРЫ

НАУКА ИЗ ПЕРВЫХ РУК

№ 4 (22) 2008



Дорогие друзья!

Среди событий, предшествовавших новому выпуску нашего журнала, безусловно, наиболее ошеломляющим стало полное затмение солнца, которое можно было наблюдать в г. Новосибирске 1 августа. Это уникальное астрономическое явление вызвало большой интерес ученых и широкой публики.

Тема инфраструктурного обеспечения науки как важного фактора успешного ее развития на фоне этого удивительного космического события не кажется столь впечатляющей, но только не в случае, когда речь идет о создании в СО РАН многофункционального Центра на базе строящегося современного вивария с повышенными требованиями к содержанию животных, включающего криобанк, лаборатории репродуктивных технологий, трансгенеза, фенотипирования и сектор племенного разведения генетических линий. Благодаря такому продуманному устройству, становится возможной эффективная работа Центра, в том числе — сотрудничество с мировыми центрами генетических моделей, которые объединяет Федерация международных мышинных ресурсов, а также активное взаимодействие с институтами СО РАН, СО РАМН, университетами и инновационными компаниями.

Что значит повышенные требования к содержанию животных? Это создание условий, необходимых для разведения и изучения животных, свободных от видоспецифических возбудителей болезни (specified pathogen free — SPF), которые, будучи источником неконтролируемого «шума», стали настоящим «бичом» для многих экспериментальных работ. Аббревиатура SPF — хорошо соотносится с двумя другими, а именно: с WTO и GLP. Вступление России во Всемирную торговую организацию (World Trade Organisation) повлечет за собой лицензирование всех видов виварной деятельности в соответствии со стандартами надлежащей лабораторной практики (good laboratory practice — GLP). Следование этим стандартам уже сейчас является обязательным международным требованием к проведению доклинических испытаний лекарственных препаратов, к

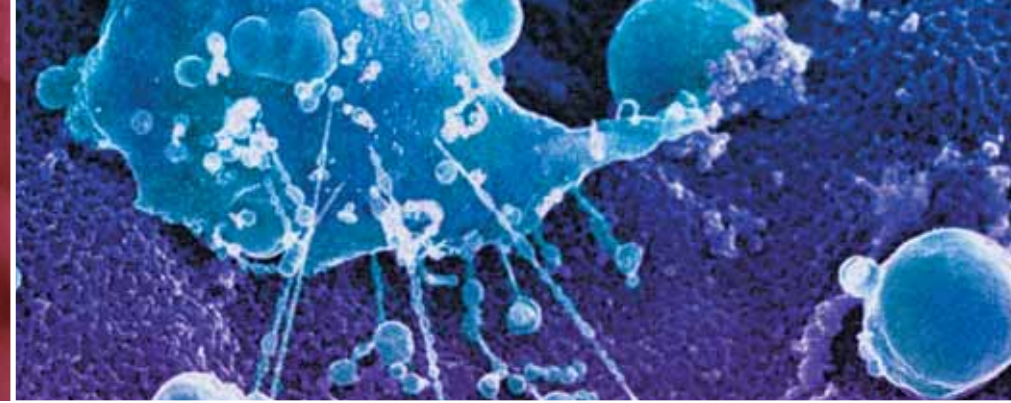
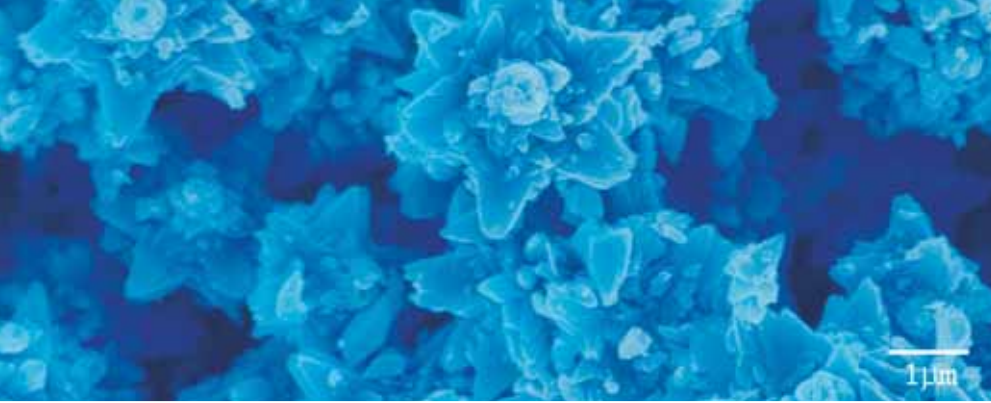
работам в области биобезопасности, включая безопасность наноматериалов.

Принимая решение о строительстве такого вивария, Сибирское отделение РАН вновь подтвердило свое умение работать на опережение. Новый виварий призван обеспечить работу в полном соответствии с GLP-стандартом. Однако время не стоит на месте, и, заглядывая дальше в будущее, Президиум СО РАН принял решение об организации на базе строящегося SPF-вивария Центра коллективного пользования для проведения исследований в области генетики, молекулярной биологии, физиологии, биомедицины, нанобиобезопасности и фармакологии.

Материалы настоящего выпуска, посвященные новому виварию и Центру, дают читателю представление о том, какие возможности получает современная наука в пост-геномную эру, наступившую вслед за прочтением генетического кода человека; о том, как важны для науки о жизни эксперименты на животных с заданными генетическими свойствами; о том, почему мышь стала одним из основных объектов исследований, ориентированных на физиологию и фундаментальную медицину, почему создаются криоархивы эмбрионов мышей и крыс и какие технологии обеспечивают эту бурно развивающуюся отрасль знания.

Долгое время уникальные дорогостоящие экспериментальные установки оставались прерогативой физиков. Но современные виварные и другие биотехнологические комплексы и по масштабам затрат, и по научному выходу приближаются к синхрофазотронам. Не случайно нобелевский лауреат, профессор Рийоджи Нойори (Ryoji Noyori) назвал Центр генетических ресурсов экспериментальных животных Общества РИКЕН (аналог РАН) ускорителем науки. И мы рады поведать нашим читателям о таком, первом за Уралом, «ускорителе науки» — залогте будущих научных сенсаций.

академик Н. Л. Добрецов,
главный редактор



Только те ПАРТНЕРЫ ПО ТАНЦУ, чьи движения полностью повторяют движениям ПЧЕЛЫ-ТАНЦОВЩИЦЫ в течение нескольких раундов танца, получают информацию о местонахождении ИСТОЧНИКА ПИЩИ **С. 54**

У МУРАВЬЕВ, при изучении их символического «языка», обнаружилось СПОСОБНОСТИ к СЧЕТУ и даже к осуществлению простейших арифметических операций **С. 68**

С помощью высокоразрешающего СКАНИРУЮЩЕГО ЭЛЕКТРОННОГО МИКРОСКОПА удалось не только изучить строение оболочки клеточного ядра, но даже ЗАГЛЯНУТЬ В ГЛУБЬ его **С. 76**



.01

НОВОСТИ НАУКИ

- 6 **Д. Т. Бернс, М. П. Мошкин**
Drosophila игнорирует солнечное затмение
- 10 **О. М. Хлыстов**
Ископаемый огонь Байкала

.02

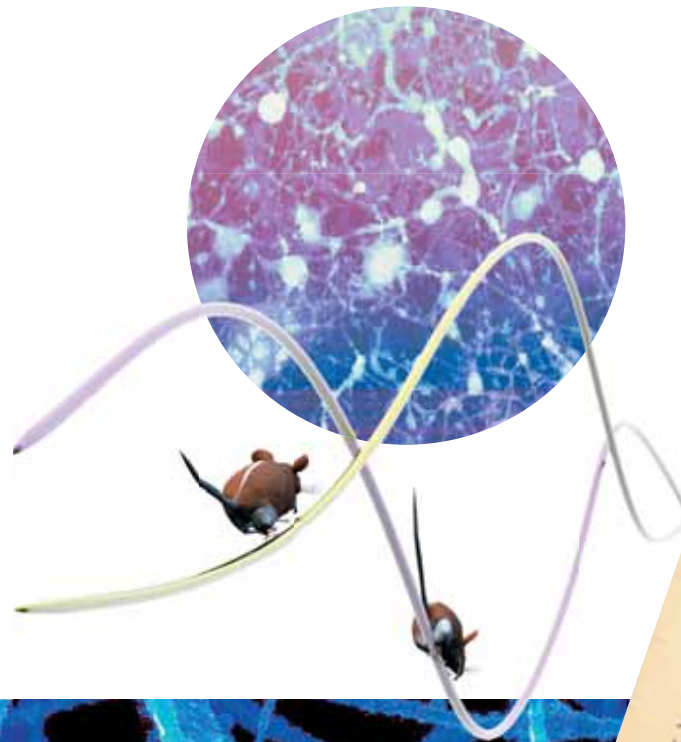
ГОРИЗОНТЫ НАУКИ

- 16 **М. П. Мошкин**
ПОСТГЕНОМНАЯ ЭРА или Зачем нужны 300 тысяч линий мышей

.03

ЛИЦОМ К ПРИРОДЕ

- 54 **Ю. Тауц**
Что пчелы знают о цветах
- 68 **Ж. И. Резникова**
Язык муравьев до открытия доведет



Сюрприз от СОЛНЕЧНОГО ЗАТМЕНИЯ: в эпоху затнувшегося минимума цикла солнечной активности КОРОНА светила неожиданно оказалась существенно НЕОДНОРОДНОЙ **С. 102**

В этом году научная общественность отмечает 100-летие выдающегося представителя сибирской науки, археолога, историка и этнографа А. П. ОКЛАДНИКОВУ **С. 90**

.04

НАУЧНАЯ МАСТЕРСКАЯ

- 76 **Е. В. Киселева**
Волшебные картины микрокосма

.05

СУДЬБЫ

- 90 **В. П. Мыльников**
Мой АП

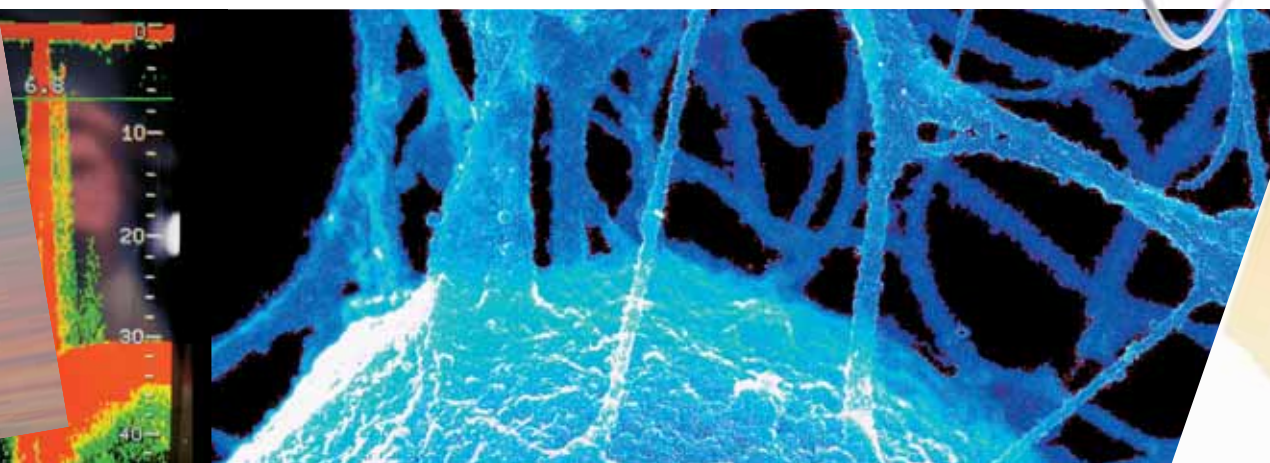
.06

ЭНЦИКЛОПЕДИЯ ЭКСПЕДИЦИЙ

- 102 **С. А. Язев**
В Монголию за русским затмением



Купи пчелы - и
= главная форма трудной
камин. на камне в году: ро
Миа! - се долгие и вы
Киселева - на перебои
Резникова!
Катамаса вблизи М
- Виза до 1500
И на 3-е: Тешан-Тан!
Неб. про муровь стел
Резникова
= 3 - сев. + 2. 5
Кедрит. ост. обилие Кам. мо
- изъездит. Костя - скандинав. ст
Овсют. Лубовой древность =
Тем или моты отсюда
Лубовал во мн
Киселева



Плодовые мушки — дрозофилы (*Drosophila melanogaster*), известные своим значительным вкладом в генетику, являются также идеальным объектом для исследований в области хронобиологии и изучения биологических ритмов.

Группа ученых из новосибирского Академгородка и профессор одного из старейших американских частных колледжей «Бетани колледж» исследовали влияние на поведение этих мушек полного солнечного затмения, состоявшегося 1 августа 2008 г. Для регистрации поведения насекомых использовалось высокотехнологичное оборудование.

Результат оказался, в принципе, ожидаемым: дрозофилы вели себя как обычно, не обращая внимания небесную драму

В семидесятые годы прошлого столетия вместе с профессором Альбертом Майером (Луизианский университет), профессор биологии Джон Т. Бернс предложил гипотезу временного синергизма (*temporal synergism*), согласно которой причиной многих морфофункциональных изменений может быть фазовый сдвиг суточ-

ных ритмов нейроэндокринных процессов.

Наиболее убедительные доказательства справедливости этой идеи исследователи получили при изучении сезонных изменений жирового обмена, линьки и направления миграционного беспокойства у белойшейной овсянки — вида, совершающего сезонные мигра-

широтном направлении. Транссибирская магистраль, по которой поезд неделю движется из Москвы на Восток, показалась Джону одним из наиболее подходящих инструментов для такого рода исследований. Эксперименты с использованием Транссиба проводились в мае и июле этого года. Результаты анализируются.

Поскольку Дж. Бернс находился в Новосибирске во время полного солнечного затмения, он воспользовался ситуацией и исследовал изменения двигательной активности плодовых мушек *Drosophila melanogaster* в момент этого знаменательного события.

У сотрудников Института цитологии и генетики СО РАН Бориса

DROSOPHILA ИГНОРИРУЕТ

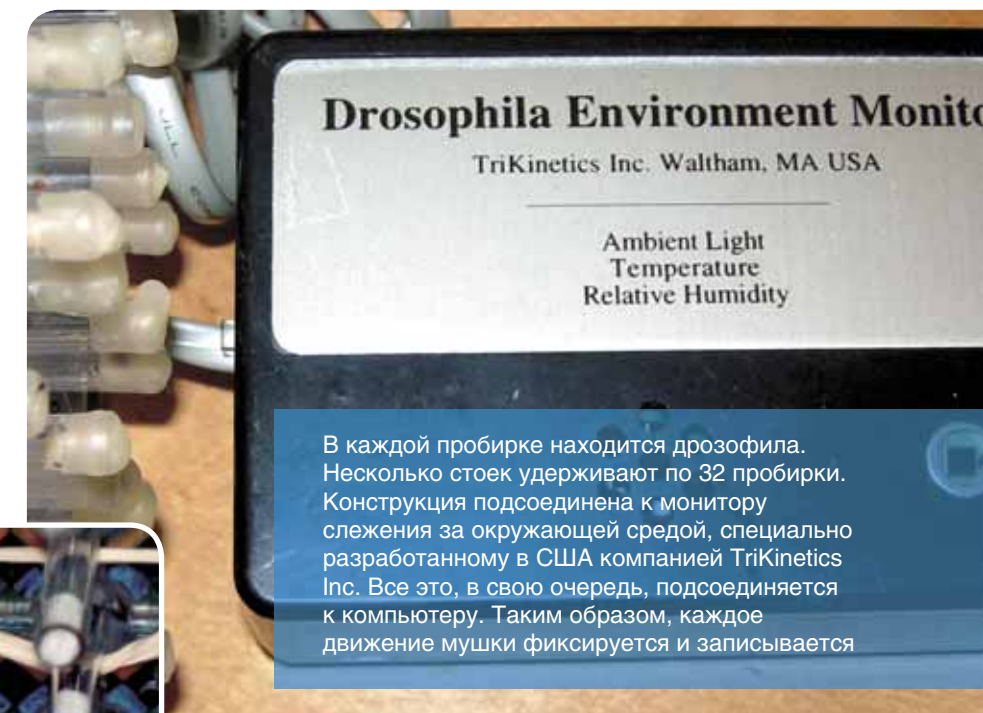
СОЛНЕЧНОЕ ЗАТМЕНИЕ

Российско-американское исследование поведения дрозофил во время полного солнечного затмения проводилось 1 августа этого года в стенах Института цитологии и генетики СО РАН под чутким наблюдением Б. Чадова, Д. Бернса, Н. Федоровой и М. Мошкина

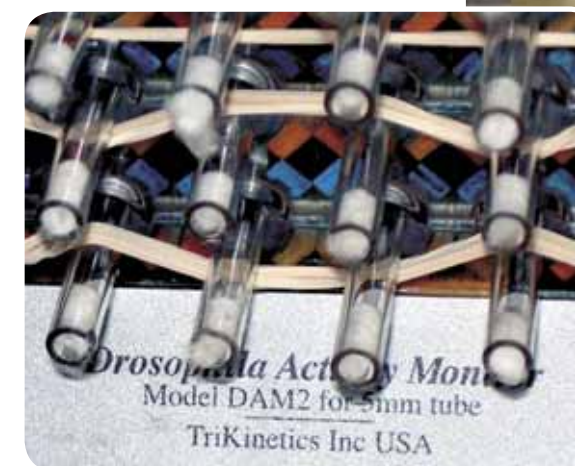


Чадова: осенью с севера на юг, весной в обратном направлении (Бернс, Мошкин, 1998).

Приезд Дж. Бернса в Новосибирск в 2008 г. связан с получением стипендии от фонда Фулбрайта (Fulbright Scholar) для чтения курса лекций в НГУ и для проведения исследований по проверке гипотезы Фрэнка Брауна об изменении свободотекущих циркадных ритмов при перемещении организмов в



В каждой пробирке находится дрозофила. Несколько стоек удерживают по 32 пробирки. Конструкция подсоединена к монитору слежения за окружающей средой, специально разработанному в США компанией TriKinetics Inc. Все это, в свою очередь, подсоединяется к компьютеру. Таким образом, каждое движение мушки фиксируется и записывается



Люксметр точно зарегистрировал скачок в уровне дневного освещения, который пришелся на фазу полного солнечного затмения, т. е. на 17:45:51 по новосибирскому времени



Дрозофилы в непрозрачной коробке и дрозофилы, находившиеся на столе вблизи окна, не меняли своей активности даже в полную фазу затмения. Их движения фиксировались каждые 30 секунд в течение всего дня. На схемах показаны усредненные данные двадцатичетырехчасового наблюдения по обеим группам

Участница группы Нина Федорова оказалась одной из немногих, чей прогноз на влияние солнечного затмения на дрозофил совпал с действительностью

Чадова, Нины Федоровой, Михаила Мошкина, а также у самого Джона Бернса были различные мнения относительно того, будет ли меняться поведение дрозофил во время затмения.

Чтобы разрешить спор провели наблюдения за спонтанной активностью дрозофил во время солнечного затмения с помощью оборудования производства TriKinetics Inc., США. Каждую мушку с запасом корма помещали в отдельные стеклянные пробирки размером 5×65 мм, закрытые ватой. Пробирки объединялись по тридцать две штуки в специальную стойку. В середине каждой пробирки проходит луч инфракрасного (ИК) излучения для отслеживания перемещений дрозофилы. Датчики наблюдения за поведением дрозофил были подсоединены к компьютеру, который регистрировал число пересечений ИК-луча за 30 с. Одновременно люксметр измерял уровень дневного освещения.

В эксперименте одну группу дрозофил разместили на лабораторном столе на расстоянии 1 м от окна. Другую группу поместили в вентилируемой, непрозрачной деревянной коробке. Всего в каждой группе было по 32 дрозофилы. Плодовые мушки, находившиеся вблизи окна, не проявили поведенческой реакции на резкое падение освещенности в момент затмения. Точно также дрозофилы, спрятанные в непрозрачной коробке, не отреагировали на изменения гравитации, которые происходят при расположении на одной оси Солнца, Луны и Земли.

Участник исследовательской группы Нина Федорова, чей прогноз на исход эксперимента оказался точным, наблюдала небесное явление в спокойной обстановке своего сада. Там она также заметила, что многочисленные насекомые, такие как шмели и мухи, занимались своими обычными делами, совершенно не обращая внимание на драму, происходящую в небе.

Проф. биологии, Дж. Т. Бернс (Бетани колледж, США), д. б. н., профессор М. П. Мошкин (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск)

Литература:
Бернс Дж., Мошкин М. // Журн. общ. биологии. — 1998. — Т. 59, вып. 4. — С. 377–399.

Международная конференция «Хромосома 2009»

Институт цитологии и генетики СО РАН

1—4 сентября 2009 г.



Международных конференций, посвященных вопросам структурной и функциональной организации хромосом, не проводилось в нашей стране почти 25 лет. Между тем в последние годы отечественными цитогенетиками получено значительное количество новых данных о хранении и реализации генетической информации в хромосоме. С учетом возможностей современной научной приборной базы и последних технологий разработан ряд новых методов исследований. Современные цитогенетические исследования, выполняемые ведущими научными генетическими группами в Российской Федерации, хорошо известны мировой научной общественности.

Необходимо отметить важность научной преемственности Международной конференции «Хромосома 2009». Посвященная цитогенетическим исследованиям, по своему замыслу она является возрождением научных семинаров, идейным вдохновителем и организатором которых была член-корреспондент АМН СССР, доктор биологических наук, профессор, лауреат Государственной премии СССР А. А. Прокофьева-Бельговская (1903—1984 гг.). Легендарная личность в российской науке, Александра Алексеевна является основателем советской школы цитогенетики человека и медицинской цитогенетики.

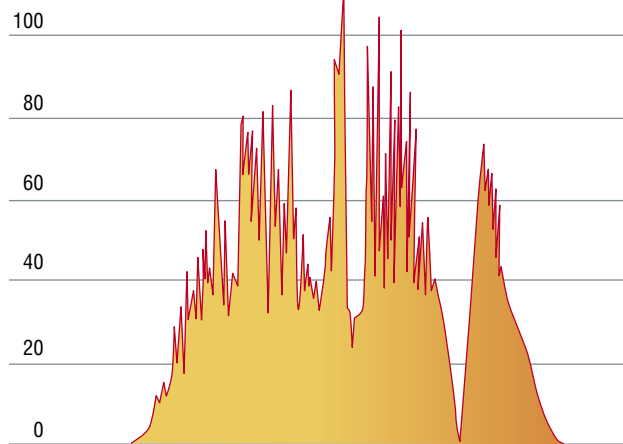
Число участников конференции составит более ста человек, доклады представят научные лидеры цитогенетических лабораторий из России, стран Европы и США. Выбор института-организатора конференции неслучаен. По ряду направлений среди генетических и

цитологических исследований Институт цитологии и генетики СО РАН — лидирующая научная организация не только в России, но и в мире. Программный комитет конференции возглавит академик РАН И. Ф. Жимулев. Проводимая на базе ИЦиГ СО РАН Международная конференция «Хромосома 2009» будет способствовать установлению творческих связей между отечественными и зарубежными генетиками, станет источником профессионального роста молодых ученых России, послужит делу возрождения научных традиций отечественной школы цитогенетики.

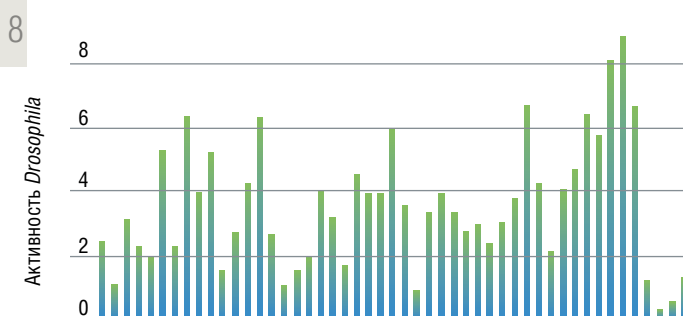
Рассылка первого циркуляра намечена на начало сентября 2008 г.

Всех, у кого есть какие-либо документы по конференциям этой серии в 1970—1980-х гг., просим выслать их по адресу: Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090, Новосибирск, пр. Академика Коптюга, 2.

Контакты:
Зыков Иван Анатольевич
e-mail: zykov@bionet.nsc.ru
т. (383) 333-39-12



1 августа 2008 г.



1 августа 2008 г.

ИСКОПАЕМЫЙ ОГОНЬ БАЙКАЛА

ФОТОРЕПОРТАЖ В. КОРОТКОРУЧКО



Ископаемый огонь с байкальского дна в руках Олега Хлыстова, заведующего лабораторией геологии Байкала ЛИН СО РАН

В прошлом году три ведущих специалиста из ВНИИГАЗа (Москва) принимали участие в работе Международной конференции, посвященной изучению газовых гидратов, организованной Лимнологическим институтом СО РАН (Иркутск). Результаты конференции и демонстрации отбора проб газогидратов на Байкале так их впечатлили, что по возвращении в Москву на Ученом совете в своем институте они сумели заинтересовать руководство этой темой. После чего было решено провести технологический рейс на Байкале, совместив его с научно-практическим семинаром для молодых ученых и специалистов по проблемам газа и газовых гидратов. Совместный рейс сотрудников ВНИИГАЗа и ученых ЛИН СО РАН благополучно состоялся в июле нынешнего года



В прошлом году в Иркутске было подписано «Соглашение о научно-техническом сотрудничестве между Иркутским научным центром СО РАН и ОАО «Иркутскгазпром» для обеспечения совместного участия сторон в реализации положений «Энергетической стратегии России до 2020 г.» и некоторых других программ. В рамках этого соглашения предусматривается сотрудничество в научном сопровождении поиска и разработки месторождений, транспорте углеводородного сырья и его комплексной переработке. Не обойден вниманием и такой положительный момент, как участие сибирских ученых в подготовке молодых кадров для газовой компании. Сама идея сотрудничества науки и производства родилась еще год назад во время визита делегации Газпрома в Новосибирский научный центр и получила поддержку как со стороны СО РАН, так и со стороны Газпрома

Не пробило семи часов утра, а научно-исследовательское судно ЛИН СО РАН «Г. Ю. Верещагин», совершив ночной переход, вышло в район работы

Программа Газпрома «Разработка методов поиска, картирования газогидратных природных залежей» стартует с 2009 г. Чтобы подготовиться к ней, а заодно и поделиться опытом в поиске и изучении байкальских газогидратов, на Байкал был откомандирован большой отряд молодых специалистов, известных ученых и представителей ВНИИГАЗа. Администрация ВНИИГАЗа предложила также пригласить на семинар молодых ученых из Сибирского отделения и других институтов, занимающихся проблемой газа и газогидратов.

Молодежный семинар прошел в конференц-зале гостиницы «Маяк» в дружеской обстановке. Были заслушаны доклады, посвященные различным проблемам нефтегазовой геологии, разработки и эксплуатации месторождений, использования систем сбора и подготовки углеводородного сырья. Не осталась в стороне и тема газогидратов.

На следующий день все участники от ВНИИГАЗа и молодые ученые из Новосибирска и Санкт-Петербурга отправились на научно-исследовательских судах ЛИН СО РАН «Г. Ю. Верещагин», «Г. Титов» и «Папанин» в



Гидраты есть! И над столом смыкается кольцо из участников экспедиции. За считанные минуты надо успеть отобрать и упаковать в герметичные контейнеры пробы, а затем поместить их на холод

Керн с газогидратом со дна Байкала. Вещество белого цвета — это и есть новый источник топлива

Сотрудники ВНИИГАЗа вызвали уважение у своих коллег четкой работой и высокой квалификацией

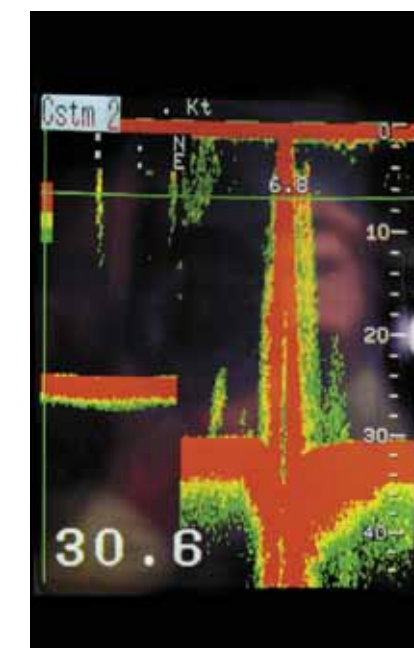
Отбор пробы воды с 400-метровой глубины проводит ученый секретарь ЛИН СО РАН, д. б. н. Т. Земская

Так выглядит на экране судового эхолота «факел» газовых пузырей в очаге разгрузки газа

незабываемое двухдневное путешествие по Байкалу для ознакомления с методами поиска и отбора газогидратов.

Полигоном для работ выбрали район грязевого вулкана «Маленький» — одного из наиболее исследованных на сегодняшний день мест приповерхностного скопления газогидратов. Именно здесь в марте 2000 г. были подняты на лед озера первые приповерхностные газовые гидраты Байкала. С тех пор комплексные междисциплинарные работы в этом районе не прекращались.

В рейсе молодым ученым были продемонстрированы геолого-геофизические методы поиска и пробоотбора газовых гидратов, разработанные в ЛИН СО РАН. Многие из участников рейса впервые видели природный





Охотники за газогидратами. Совместная экспедиция ВНИИГАЗа и ЛИН СО РАН на борту «Г. Ю. Верещагина»

газогидрат, но суматохи и ажиотажа вокруг только что вскрытой трубки с керном, в которой находились газогидраты, не было.

Молодая команда под четким руководством опытных специалистов быстро и качественно провела все необходимые операции по фото- и видеодокументации гидрата, его консервации и сохранения с целью дальнейшего изучения в лабораториях ВНИИГАЗа.

Погода в первый день благоволила работе экспедиции, и все пробы были отобраны еще до заката.

На следующий день участники экспедиции познакомились с одним из крупнейших мелководных мест разгрузки газа на дне озера вблизи дельты р. Селенга. Найти место разгрузки не составило труда, были проведены заборы проб воды, но погода стала резко ухудшаться и экспедиция перебазировалась в Листвянку.

Байкал показал себя во всей красе — от солнечного штиля до шторма с дождем. Но это было участникам экспедиции даже полезно, так как они поняли, что такое качка и как работать при штормовой погоде. Это знание пригодится некоторым участникам нынешней

экспедиции уже в будущем году в Охотском море, в районе одного из лицензионных участков Газпрома. И байкальский опыт поиска и отбора проб газогидратов там не будет лишним.

По окончании рейса было принято решение, что Байкал с его уникальными по составу гидратами и условиями их залегания должен стать полигоном для обучения молодых специалистов и проведения апробации экологически чистых методов и технологий, планируемых запустить в ходе реализации программы Газпрома по изучению природных газогидратов.

Мы надеемся, что так оно и будет. И мы рады всем, кто будет способствовать дальнейшему познанию нашего неповторимого озера, не нарушая его экосистему.

*Руководитель экспедиции О. М. Хлыстов,
(ЛИН СО РАН, Иркутск)*

Успехи науки: метод мягкой химии

Образец А. Гаврилова,
фото А. Гаршева

2 μm

Эти структуры гидроксида магния, похожие на розы, получены в результате многократного свертывания слоев вещества. Объект является результатом сольвотермального синтеза с использованием ацетата магния и этилового спирта

Что такое Группа гидротермального синтеза? Это студенты и выпускники факультета наук о материалах и химического факультета МГУ. В целом группа, которой руководит д. х. н., профессор Б. Р. Чурагулов, является одним из подразделений лаборатории неорганического материаловедения химфака МГУ, которая более 10 лет назад была создана академиком Ю. Д. Третьяковым.

Наша специализация — развитие и использование методов «мягкой химии», в частности — гидротермального метода для синтеза различного рода функциональных материалов, таких как нанопорошки простых и сложных оксидов, одномерные (1D) нанообъекты, гибридные материалы, наноконпозиты, прозрачные проводящие оксиды, биоматериалы и т. д.

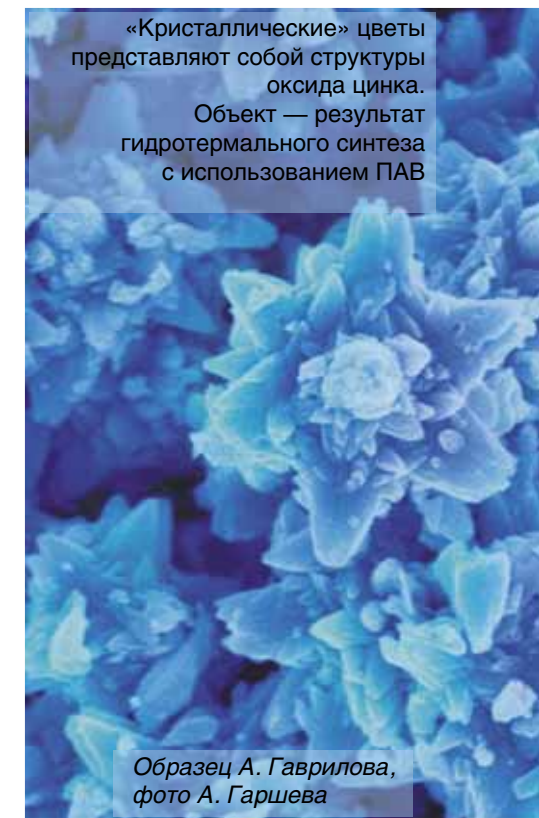
Наши научные интересы — экологически чистые методы «мягкой химии» такие как гидро- и сольвотермальный методы синтеза функциональных материалов в сверхкритических растворах при повышенных температурах в водных и неводных растворах. В область научных интересов входит также применение ультразвуковых и микроволновых воздействий на химические процессы в гидротермальных условиях для увеличения функциональных возможностей новых, экологически чистых и энергосберегающих гидротермальных технологий и многое другое.

Основными объектами исследования, с которыми мы работаем, являются нанокристаллические порошки диоксида титана (TiO_2) и оксида цинка (ZnO), аэрогели на основе TiO_2 , а также некоторые другие соединения.

О научных результатах молодых ученых из группы гидротермального синтеза МГУ читайте в будущих выпусках нашего журнала

*Д. х. н., Б. Р. Чурагулов
А. И. Гаврилов
(факультет наук о материалах МГУ,
Москва)*

«Кристаллические» цветы представляют собой структуры оксида цинка. Объект — результат гидротермального синтеза с использованием ПАВ



Образец А. Гаврилова,
фото А. Гаршева

ПОСТГЕНОМНАЯ ЭРА

или Зачем нужны 300 тысяч линий мышей

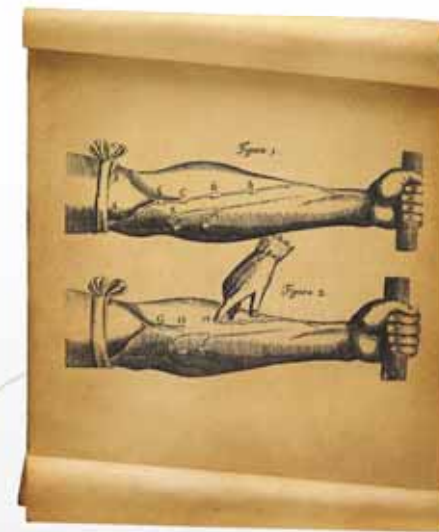
М. П. МОШКИН



МОШКИН Михаил Павлович — доктор биологических наук, профессор, заведующий Отделом генофондов экспериментальных животных Института цитологии и генетики СО РАН. Область научных интересов: популяционная физиология, исследование материальных основ внутривидовых взаимодействий, обеспечивающих устойчивое воспроизведение биологических видов. Автор более 150 научных статей, 4 статей в БРЭ, 1 монографии

Нет нужды доказывать, что вопрос о том, как работает живой организм, актуален для каждого из нас. Проблема заключается лишь в выборе адекватного «инструмента» познания. Как правило, процесс исследования любой биологической системы, будь то клетка, особь или биогеоценоз, начинается с «морфологического», структурного описания. Однако несмотря на необходимость этого этапа, его одного недостаточно, чтобы постичь механизмы функционирования изучаемой системы. Замечательной иллюстрацией того, насколько ошибочными могут быть умозрительные построения, опирающиеся исключительно на описание структур, являются представления античных ученых о функции головного мозга. Этому «материальному субстрату» высшей нервной деятельности Аристотель, как и его коллеги, отводили роль хранилища воды и слизи для охлаждения крови, а также спермы, поступающей из мозга по венам вокруг ушей.

Современные методологические основы изучения функций были заложены еще в XVII в. английским врачом В. Гарвеем, который одним из первых начал сознательно манипулировать структурами организма с целью понять их предназначение. И сегодня, спустя столетия, этот подход не утратил своей актуальности: направленные воздействия на живые системы остаются основным подходом к экспериментальному изучению механизмов их функционирования. Изменился лишь масштаб: в наше время объектами манипуляций все чаще становятся как крупные экосистемные образования (например, элементы ландшафтов), так и мелкие структуры живых организмов (клетки, клеточные органеллы и органические молекулы)



Опыт В. Гарвея по изучению кровообращения. При остановке венозного оттока с помощью жгута можно увидеть работу венозных клапанов, «облегчающих» движение крови по направлению к сердцу

О создании Сибирского центра генетических моделей на животных

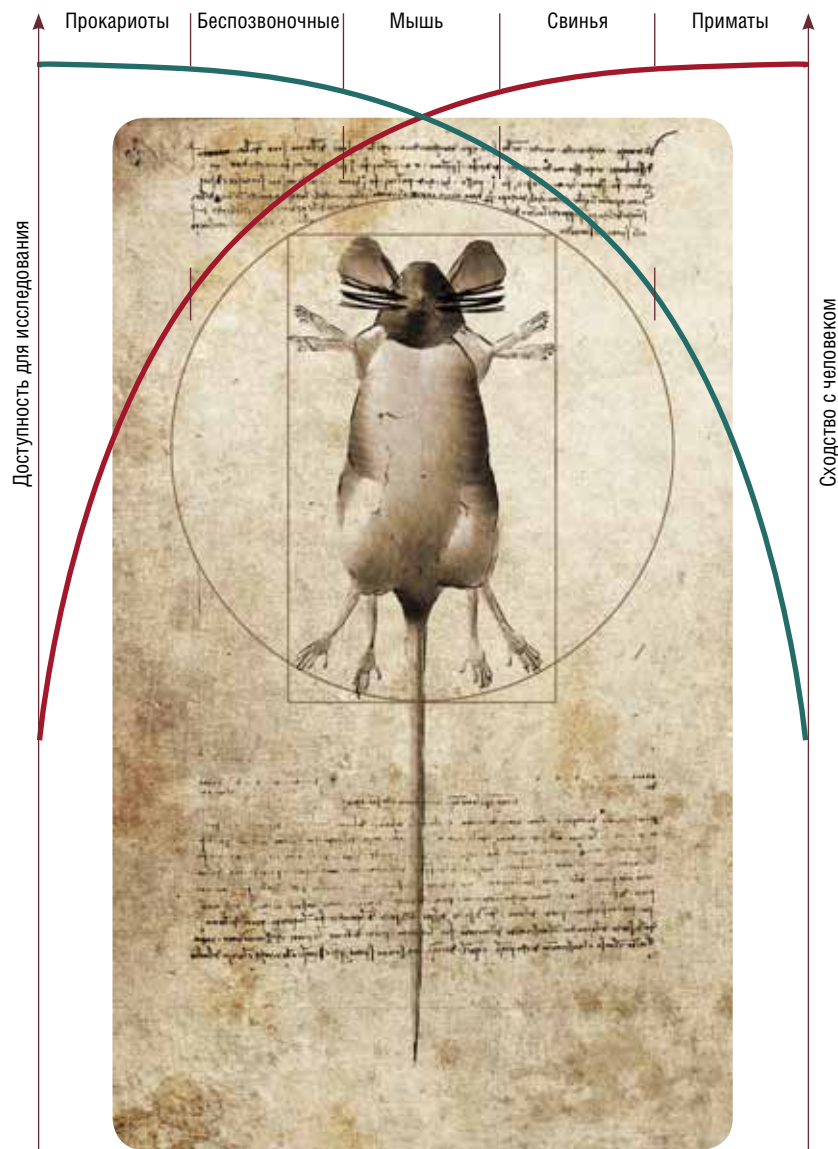
Области применения генетических моделей на животных:

1. Моделирование патологий (*model of diseases*).
2. Молекулярно-генетическая физиология (*functional genomics*).
3. Испытание средств профилактики и лечения (*preclinical studies*)

В случае же «генетического» текста ситуация усложняется тем, что сам процесс «считывания» информации происходит в несколько этапов, на каждом из которых возможна корректировка и перекодирование. В итоге элементарное событие на уровне *генотипа*, начинающееся с транскрипции конкретного гена, на уровне *фенотипа* приобретает достаточно неопределенность.

Чтобы разобраться во всех этих хитросплетениях, неизмеримо более сложных, чем даже взаимодействия между органами, тканями и клетками, ученые вновь вынуждены прибегать к манипуляциям структурами. Однако, в отличие от «постгравееского» времени, в «постгеномную» эру в распоряжении исследователей находятся уже не десятки видимых глазом структурных образований, но около 25 тысяч (!) микрообъектов — генов. Ведь именно таковы размеры геномов человека и многих видов млекопитающих, используемых современной наукой в качестве экспериментальных моделей.

Возможность целенаправленного генно-инженерного манипулирования резко увеличила темпы накопления знаний о роли отдельных генов и их комбинаций в реализации программ индивидуального развития, в реакциях организма на различные факторы среды, а также в понимании патологических процессов, имеющих генетическую природу. Так, простой наукометрический анализ, заключающийся в запросе на сайте PubMed научных статей, в которых



Мышь как оптимальный модельный объект в координатах «доступность—адекватность»

упомянуто словосочетание «трансгенные мыши», дает более 90 тыс. ссылок (и это при том, что впервые такие мыши были получены всего лишь 20 лет назад)! Сегодня рост числа статей в этой области биологии идет со скоростью, превышающей тысячу публикаций в месяц.

Мышиная троица

Но почему, собственно, мы завели речь о ... мышах? Не секрет, что львиная доля научных исследований ориентирована на обеспечение здоровой и продолжительной жизни людей. Но среди всего многообразия экспериментальных объектов, именно мыши попадают в точку оптимума при учете двух главных факторов — генетической близости к человеку и доступности для

Трансгенные животные — это генетически модифицированные организмы, в геном которых искусственно введен чужеродный ген, способный экспрессироваться и наследоваться как любой природный ген

исследования. Бактерии, дрозофилы и другие беспозвоночные, безусловно, наиболее удобны для содержания в лабораторных условиях, но по многим характеристикам, в том числе генетическим, слишком далеки от человека. Обезьяны и свиньи, напротив, наиболее генетически близки к нам, однако содержание и изучение подобных многокилограммовых объектов требует значительных материальных затрат. Кроме того, работа с крупными млекопитающими ограничена по этическим соображениям. Например, в Японии не хотят убивать обезьян, и хотя избыточная численность обезьян в некоторых районах приносит реальный экономический ущерб, японцы вкладывают немалые средства в разработку методов контрацепции диких животных.

Итак, в качестве наиболее приемлемого компромисса для исследователей остается мышь с заданными генетическими свойствами. Какие же возможности открываются при изучении подобных модельных объектов? Во-первых, мы можем приблизиться к пониманию роли и места генетических процессов в формировании фенотипа в широком смысле этого слова, т. е. в регуляции морфологического развития и в обеспечении физиологических и поведенческих функций. Одним из наиболее продуктивных подходов в этой области является строго адресованное «выключение» (*нокаутирование*) отдельных генов или, наоборот, усиление их функции.

Во-вторых, благодаря генно-инженерным методам, появилась возможность прямого наблюдения



СЕРОВ Олег Леонидович — доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией генетики развития Института цитологии и генетики СО РАН. Лауреат государственной премии, автор более 200 публикаций



СЕРОВА Ирина Александровна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института цитологии и генетики СО РАН. Автор более 70 публикаций

Получение трансгенных животных

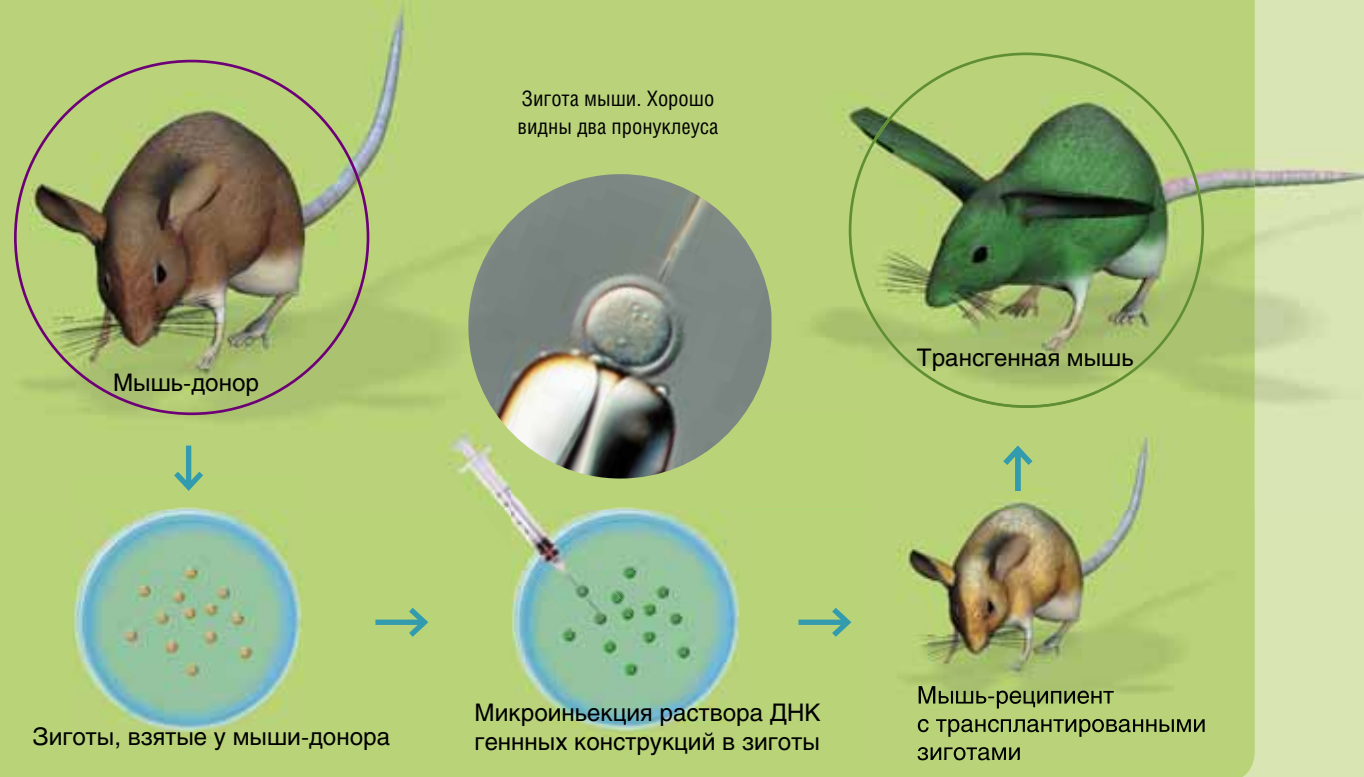
В наши дни трансгенные организмы перестают быть редкостью и значение их для биологии и медицины трудно переоценить. Искусственное включение практически любого интересующего исследователей гена позволяет физиологам изучать на трансгенных животных различные отклонения в гомеостазе организма, иммунной системе, в эмбриогенезе и во многих других случаях.

Исследования в биомедицине сосредоточены в основном на том, чтобы создать широкий спектр моделей заболеваний человека, включая такие, как атеросклероз, диабет, гипертонию, болезнь Альцгеймера, ретинобластому, онкологические и многие другие заболевания. Модели трансгенных животных, как правило мышей, позволяют изучать механизмы развития и лечения болезней человека.

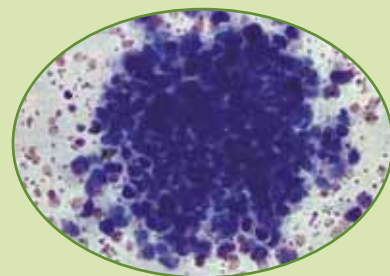
Трансгенные мыши являются также незаменимой модельной системой и для тестирования генетических конструкций перед получением сельскохозяйственных трансгенных животных-биореакторов, способных с молоком продуцировать белки человека.

Гранулоцит-колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) является ценным стимулятором кроветворения, широко применяемым в клинике при переливании крови, лечении последствий радио- и химиотерапии в онкологии (Hobel et al., 2003). В клинических исследованиях показано, что Г-КСФ-терапия предотвращает и лечит инфекции у иммунонекомпетентных пациентов, благоприятно воздействуя на клетки крови. В последнее время Г-КСФ используется и для различных целей так называемой регенерационной медицины. Появились сообщения, что Г-КСФ улучшает функции сердечной мышцы и уменьшает смертность после острого инфаркта миокарда при введении в область инфаркта стволовых клеток крови пациента. Г-КСФ синтезируется в моноцитах, фибробластах и эндотелиальных клетках

Получение линий трансгенных мышей



Были созданы три генно-инженерные конструкции, способные обеспечить синтез биологически активного гранулоцит-колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) человека в молоке трансгенных мышей. Конструкции содержали ген Г-КСФ человека, слитый с регуляторными последовательностями гена альфа-S1-казеина молока коровы или козы разной длины — от 721 до 3387 пар оснований (pb). Это позволяло включить от минимально необходимого до максимального набора сайтов регуляции, которые составляют сложный физиологический механизм активации функций молочной железы, таких, например, как рецепторы гормональной стимуляции лактации, беременности и др. С помощью микроинъекций рекомбинантной ДНК в зиготы мышей получено более 10 трансгенных животных, каждое из которых дало начало собственной линии мышей. На более чем 400 потомках этих основателей были исследованы: наследование трансгена, продукция и биологические свойства Г-КСФ человека. Установлено, что трансген наследуется в ряду поколений по законам Менделя как любой природный ген. Обнаружено, что в молочных железах трансгенных лактирующих самок всех линий трансген стабильно экспрессировался. Концентрация Г-КСФ человека в молоке варьировала от 0,1 мг/мл до 1000 мкг/мл. У трансгенных животных с самой «короткой» регуляторной последовательностью (721 pb) выявлено присутствие Г-КСФ человека в сыворотке крови, что свидетельствует об эктопической экспрессии трансгена, т.е. белок человека синтезировали не только клетки молочной железы, но и других внутренних органов. Это было нежелательное осложнение, поскольку трансгенный белок — сильный стимулятор кроветворения и может нанести вред здоровью трансгенной особи. Молоко всех трансгенных животных стимулировало образование кроветворных гранулоцитсодержащих колоний в культуре клеток пуповинной крови человека, и его активность была сопоставима с активностью препаратов натурального Г-КСФ человека. По совокупности характеристик наиболее перспективной оказалась третья конструкция с самой протяженной (3387 pb) регуляторной областью, которая и была использована для получения трансгенных коз



Молоко трансгенных мышей стимулирует рост кроветворных колоний у человека



Момент микроинъекции рекомбинантной ДНК в мужской пронуклеус зиготы козы

Наиболее широко используемый метод введения трансгена — микроинъекция в пронуклеусы (мужское и женское ядро) зиготы в тот момент, когда спермий проник в яйцеклетку, и пронуклеусы готовятся к слиянию. Суть метода заключается во введении в мужской пронуклеус с помощью микроманипулятора со стеклянным капилляром (диаметр кончика 1 мкм) раствора экзогенной (чужеродной) ДНК (500–1000 копий гена). Эта процедура проводится под микроскопом со специальной оптикой, позволяющей видеть пронуклеусы в трехмерном измерении.

Эффективность интеграции трансгенов в геном, т.е. число трансгенных животных от общего числа родившихся при использовании данного метода в зависимости от вида животных колеблется незначительно. Так, у мышей этот показатель составляет 5–15%, у свиней — 10–15%, у кроликов — 10%, у овец, коз и коров — 5–10%

Можно выделить следующие этапы получения трансгенных животных:

- 1) получение зигот от гормонально стимулированных самок;
- 2) микроинъекция раствора ДНК генных конструкций в мужской пронуклеус зиготы;
- 3) трансплантация проинъецированных зигот самкам-реципиентам, подготовленным для вынашивания беременности;
- 4) анализ родившихся потомков на присутствие трансгена методом полимеразной цепной реакции (ПЦР-анализ);
- 5) анализ трансгенных животных по наследованию трансгена, экспрессии рекомбинантного белка, его биологической активности; необходимо узнать, активен

Вот далеко не полный список фармакологически ценных белков человека, полученных от трансгенных мышей: интерферон, фактор свертываемости крови IX, сывороточный альбумин, некоторые иммуноглобулины и многие другие белки, которые уже рекомендованы для создания молочных биореакторов

ли встроенный трансген, передается ли он потомкам, обладает ли белок всеми биологическими свойствами его природного аналога и соответствует ли уровень продукции биотехнологическим целям;

б) создание линии (стада) трансгенных животных для научных или биотехнологических целей.

Животные-биореакторы

Получение терапевтически ценных белков человека в молоке трансгенных животных — одно из перспективных направлений современной биотехнологии. Стратегия создания сельскохозяйственных молочных животных в качестве биореакторов основана на введении в управляемую регуляторными элементами одного из «генов молока» коровы, козы или овцы комбинированной генетической конструкции, содержащей последовательность ДНК человека, кодирующую необходимый белок. Согласно этой стратегии, такие трансгенные животные способны синтезировать на высоком уровне белок человека исключительно в молочной железе и секретировать его в молоко, которое в свою очередь становится источником для выделения белка человека.

В настоящее время имеются примеры успешного применения этой технологии, и созданы трансгенные козы, овцы, кролики, свиньи — продуценты человеческих белков: α -антитрипсина, сывороточного реактивного белка С, антитромбина, факторов VIII и IX свертываемости крови, лактоферрина, кальцитонина и др. (Wall et al., 1997; Rudolph, 1999; Гольдман и др., 2002).

Фармакологический рынок рекомбинантных белков, полученных из молока трансгенных домашних животных оценивается в 1 млрд долл. в настоящее время и прогнозируется его развитие до 18,6 млрд долл. к 2013 г. (Niemann и др., 2007).

Тестирование новых генно-инженерных конструкций, как правило, производится на трансгенных мышах из-за того, что большинство крупных животных — потенциальных продуцентов лекарственных белков человека имеют длительный репродуктивный период и к тому же дорого обходятся. Анализ генетических конструкций на трансгенных мышах позволяет быстро отобрать из них наиболее перспективные как по уровню продукции



Последний день эксперимента на козах по получению трансгенных коз с геном Г-КСФ человека. Осень, 2007 год



После этого эксперимента в марте 2008 г. на свет появилось 24 козленка. ПЦР-анализ всех козлят показал, что только три козленка — трансгенные, несущие Г-КСФ человека. Один из трансгенных козлят, к сожалению, родился мертвым. Фото сделано участником проекта, профессором Vicente Freitas

для тестирования, проведения его предклинических и клинических испытаний и разрешения применения получаемого лекарства в медицинской практике.

Опыт ведущих фармакологических фирм США, Канады и Англии показывает, что такие проекты длятся около 10 лет при высоком уровне финансирования. С сожалением можно отметить, что в России таких технологий практически нет, как и инфраструктуры для их развития, а это означает, что биологически ценные белки человека мы будем покупать за рубежом. А таких белков уже около 60 (Rudolph, 1999).

К тому же досадно, что российские ученые получили и протестировали на трансгенных мышах несколько эффективных генных конструкций для целей биотехнологии (Завадская и др., 2001; Дворянчиков и др., 2005; Гольдман и др., 1998; Zakharova et al., 2006), однако современных биотехнологических ферм в России нет, и эти разработки пока не используются в полной мере.

Скорее как исключение следует отметить два биотехнологических проекта, развивающихся в России.

В рамках российско-бразильского проекта, о котором рассказывается выше, участвуют Институт цитологии и генетики СО РАН, Институт молекулярной генетики РАН, Государственный университет Рио де Жанейро (UFRJ) и Университет штата Сеара (UECE), в июле 2006 г. получена трансгенная коза с геном Г-КСФ человека, конструкция предварительно была протестирована на трансгенных мышах (Dvoryanchikov et al., 2005). Статья, посвященная получению трансгенной козы опубликована в Журнале Академии наук Бразилии (Freitas et al, 2007). Осенью 2007 г. эксперимент успешно повторен, и в марте 2008 г. родились три трансгенных козленка, из которых сейчас успешно подрастают только двое — Камилла и Августин.

заданного белка, так и по его биологическим свойствам.

Проекты по получению трансгенных биореакторов, как правило, состоят из трех частей: создание генетической конструкции, включающей ген человека под управлением регуляторных областей одного из «молочных генов» (например, казеиновых), тестирование ее на трансгенных мышах и, наконец,

введение отобранных конструкций в геном молочных животных.

Получение эффективного продуцента — большая удача и гарантия в относительно сжатые сроки создания стада его потомков, обеспечивающих рынок ценным фармакологическим продуктом. При таком стаде создается лаборатория по выделению и очистке рекомбинантного белка, который передается в соответствующие фарминституты



Два трансгенных козленка с геном Г-КСФ человека противоположного пола — Камилла (слева) и Августин (справа), которые родились в марте 2008 года

Второй биотехнологический проект на козах, известный нам пока только из популярной прессы, развивается в совместном российско-белорусском проекте с генетической конструкцией лактоферрина человека. Лактоферрин содержится в женском грудном молоке и является природным антибиотиком, защищающим детский организм от всевозможных болезней. Государственными заказчиками программы выступают Федеральное агентство по науке и инновациям России и Национальная академия наук Белоруссии. Основные исследования проводят специалисты Института биологии гена РАН и Научно-практического центра НАН Белоруссии по животноводству. В конце 2007 г. ученые сумели получить двух трансгенных козлят, которые несут ген лактоферрина человека.

Фотоматериалы получены совместно с участником проекта Л.Е. Андреевой (к.б.н., с.н.с. Института молекулярной генетики РАН (Москва)).

Литература

Гольдман И.Л. и др. Лактоферрин: свойства и перспективы биотехнологического производства // Биотехнология. — 1998. — № 4. — С. 3—16.

Гольдман И.Л. и др. Трансгенные козы в мировой фармацевтической промышленности XXI века // Генетика. — 2002. — Т. 38, № 1. — С. 5—21.

Завадская Е.С. и др. Получение рекомбинантного эндостатина в молоке трансгенных мышей // Генетика. — 2001. — Т. 37. — С. 1207—1212.

Dvoryanchikov G.A. et al. Secretion of Biologically Active Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor (G-CSF) in Milk of transgenic Mice // Russian J. of Genetics. — 2005. — V. 41, N. 10. — P. 1088—1094.

Freitas V.J. et al. Production of transgenic goat (*Capra hircus*) with human Granulocyte Colony Stimulating Factor (hG-CSF) gene in Brazil // Ann. Braz. Acad. Sci. — 2007. — V. 79 N. 4. — P. 585—592.

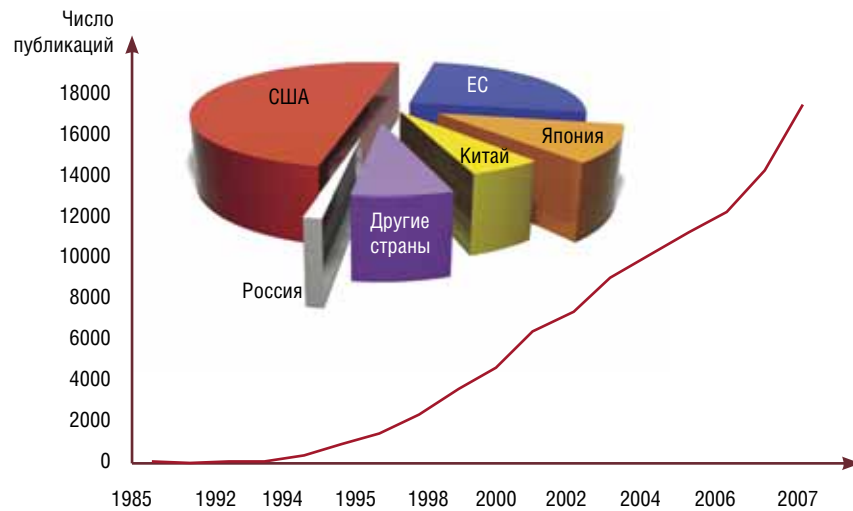
Hubel K. et al. Clinical applications of granulocyte colony-stimulating factor: an update and summary // Ann. Hematol. — 2003. — V. 82. — P. 207—213.

Niemann H. et al. Transgenic farm animals: an update // Reprod. Fertil. Dev. — 2007. — № 19. — 762 p.

Wall R.J. et al. Transgenic dairy cattle: genetic engineering on a large scale // J. Dairy Sci. — 1997. — V. 80. — P. 2213—2224.

Wall R.J. Transgenic livestock: progress and prospects for the future // Theriogenology. — 1996. — V. 45. — P. 57.

Zakharova E.S. et al. Transcription and mRNA splicing of the human lactoferrin gene controlled by the regulatory region of the bovine alphaS1 casein gene in the mammary gland of transgenic mice and in mouse embryonic stem cells // Dokl. Biochem. Biophys. — 2006. — N. 411. — P. 336—338.



Кривая роста числа публикаций с использованием материалов по изучению трансгенных мышей и вклад разных стран мира (круговая диаграмма) в общее число публикаций. Данные получены на основе запроса (*transgenic mouse*) на сайте PubMed. К моменту выхода статьи общее число публикаций перевалило за 100 000

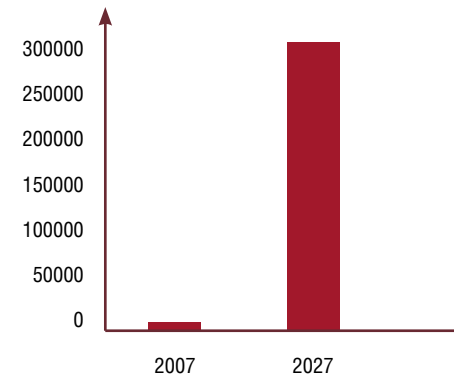
«Три ипостаси» генетически модифицированной мыши:
 1) объект исследования;
 2) инструмент исследования;
 3) звено в биотехнологическом производстве

за морфофункциональными процессами, происходящими в организме. И, наконец, уже созданы трансгенные мыши, которые могут стать реальными звеньями в биотехнологических цепочках, связанных с производством лекарственных препаратов. Иными словами, трансгенная мышь сегодня выступает сразу в трех ипостасях: она может быть и *объектом исследования*, и его *инструментом*, и *производительной мощностью* в биотехнологическом цикле.

Ген в нокауте

Сегодня редкая зарубежная статья, посвященная механизмам функционирования организмов, обходится без использования нокаутных животных. Значимость этого подхода отмечена Нобелевской премией 2007 г. в области физиологии и медицины, которую разделили М. Капекки (США), О. Смитис и сэр М. Эванс (Великобритания). Премия была присуждена за «Открытие принципов введения специфических генных модификаций в организм мышей посредством эмбриональных стволовых клеток», т. е. за изобретение *метода нокаута (gene knockout)* отдельных генов.

С помощью этого метода удалось показать, что выключение гена может отражаться не только на «целевых признаках», контролируемых этим геном, но и на многих других характеристиках организма. Это хорошо известное классическим генетикам так называемое *плейотропное действие* генов. Однако масштабы плейотропии, которые наблюдаются при изучении нокаутных генотипов, часто превосходят самые смелые ожидания. Нужно заметить, что при этом наши современники нередко попадают в ситуацию, подобную аристотелевской в отношении роли мозга. Однако в отличие от античных ученых они довольно быстро находят правильные решения, поскольку следуют экспериментальным принципам Гарвея, даже если и не отдадут себе в этом отчета.

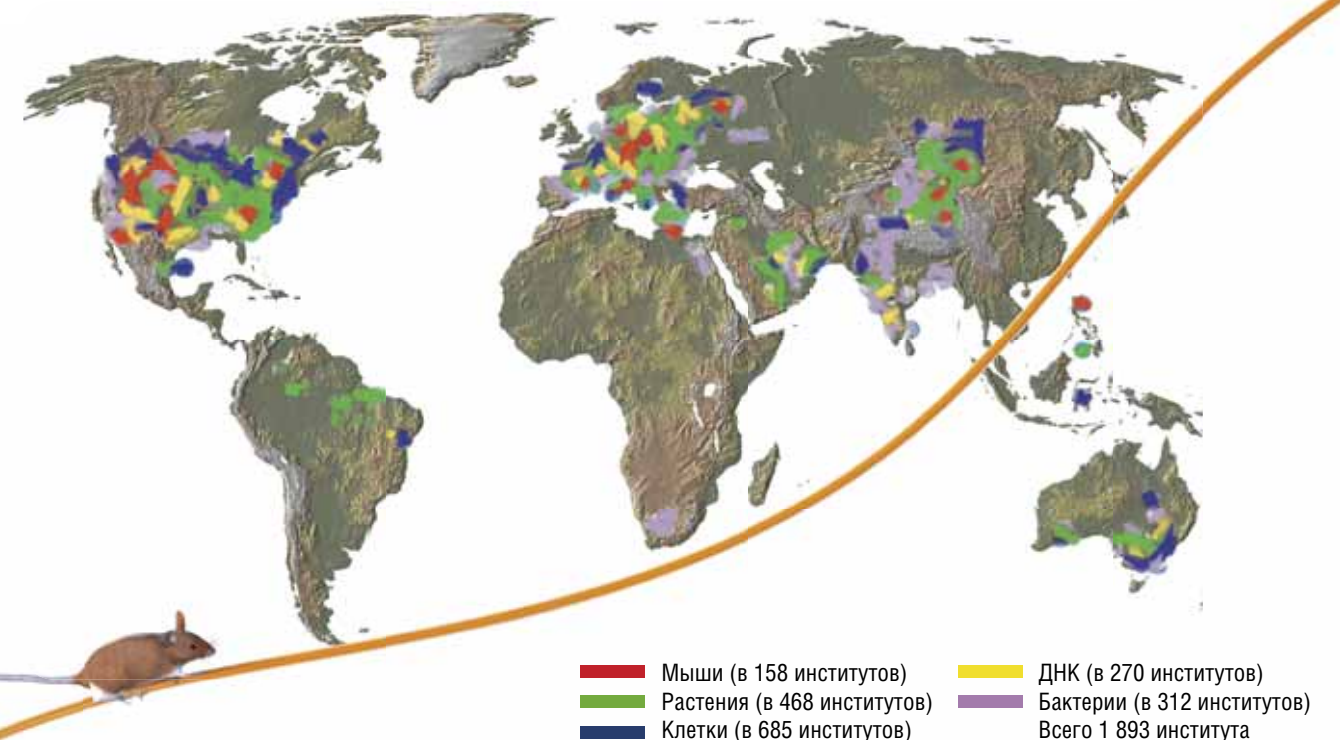


По прогнозам ученых в ближайшие 20 лет число линий мышей достигнет 300 тысяч. Основные источники разнообразия мышиных линий:
 1) трансгенез;
 2) точечные мутации (ENU);
 3) селекция

В качестве примера можно привести курьезный случай, произошедший в одной из лабораторий Женевского университета при изучении молекулярно-генетических механизмов работы биологических часов. Внимание профессора У. Шиблера и его коллег привлекло семейство белков PAR bZip, объединяющее три транскрипционных фактора, чья экспрессия меняется в строгом соответствии с суточным ритмом. Для выяснения их роли в работе биочасов исследователи использовали мышей с нокаутом соответствующих генов, по одному и в комбинации. И здесь они столкнулись с неожиданным явлением: суточный ритм не только не исчез, но дополнился отчетливым недельным циклом. В кулуарах уже стали обсуждать глубокий биологический смысл библейской недели, но все разрешилось самым прозаическим образом.

Появившийся у нокаутных мышей недельный ритм проявлялся главным образом в массовой гибели животных по понедельникам и четвергам. Выяснилось, что согласно графику уборки помещений в эти дни в виварии работали пылесосы, шум которых вызывал у животных эпилептические припадки. Специальное исследование показало, что выключение транскрипционных факторов попутно приводило к резкому росту возбудимости мышей, обусловленному дефицитом

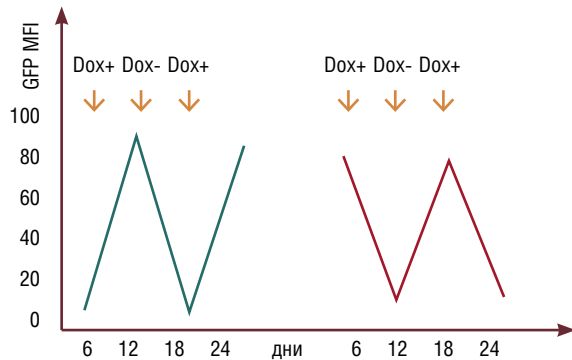
Карта, на которой показано, куда поставляет свои материалы Японский центр биоресурсов. В Россию и Африку биоресурсы практически не поставляются



фермента, катализирующего превращение витамина B6 — кофактора ферментов, участвующих в поддержании баланса важнейших нейромедиаторов. Содержательная часть этой работы была опубликована в журнале *Genes & Development* (2004), а анекдотическая распространяется как устное предание.

Другая важная истина, открывшаяся при

изучении нокаутных животных, заключается в том, что мы недооцениваем *компенсаторные возможности* организмов. Некоторые исследователи были разочарованы, не увидев ожидаемых фенотипических проявлений, которые, согласно начальным представлениям, были «обязаны» иметь место при выключении того или иного гена. Это явление обусловлено тем, что перманентный дефицит продуктов экспрессии конкретного гена может компенсироваться в ходе онтогенетического развития за счет других систем организма. Таким образом, на примере каждой нокаутной линии мы, по сути, исследуем не только роль определенного гена, но и работу компенсаторных механизмов, что само по себе интересно и важно.



Демонстрация регулируемой экспрессии GFP в фибробластах из ушных раковин трансгенных мышей. Через 6 дней после добавления (Tet-on) или отмены (Tet-off) доксициклина отмечается экспрессия GFP гена



КОЛОСОВА Наталья Гориславовна — доктор биологических наук, руководитель сектора геномной и постгеномной фармакологии Института цитологии и генетики СО РАН

Селекция на преждевременное старение

Создание и характеристика биологических моделей социально значимых заболеваний человека — один из подходов к выяснению их этиологии и патогенеза, к разработке новых способов лечения и профилактики.

В последние годы лавинообразно нарастает количество генетических моделей, среди которых доминируют моногенные — это или трансгенные, или животные с нокаутом генов, или животные с определенными мутациями. Такой подход позволяет приблизиться к пониманию вклада конкретного гена в развитие признака, но не воспроизводит фенотипические проявления заболеваний полигенной природы. В полной мере это относится к «заболеваниям пожилого возраста», которые развиваются у людей зачастую параллельно и на фоне комплексных проявлений старения, критический возраст манифестации которых существенно различается. Создание моделей, воспроизводящих такую ситуацию — сложная задача, но именно такой подход представляется оптимальным для поиска и испытания новых способов терапии и профилактики.

В мире существует практически одна признанная модель преждевременного старения: созданная японскими учеными линия мышей SAM (senescence accelerated mouse), которая представлена сегодня 12 сублиниями, различающимися по характеру расстройств в эмоциональной сфере, циркадианных



Линия крыс OXYS. Развитие комплекса признаков преждевременного старения у этих животных — результат направленной селекции крыс Вистар по признаку ранней спонтанной катаракты

ритмов, по степени и природе нарушений когнитивных функций и других проявлений старения. Как показали наши исследования, полноценной моделью преждевременного старения и связанных с ним заболеваний может служить созданная в 70-е гг. прошлого века в Институте цитологии и генетики СО РАН под руководством академика Р. И. Салганика линия крыс OXYS. Развитие комплекса признаков преждевременного старения у этих животных — результат направленной селекции крыс Вистар по признаку ранней спонтанной катаракты.

В пяти первых поколениях развитие этого заболевания провоцировали обогащенной галактозой диетой. К настоящему времени мы имеем 82-е поколение крыс OXYS со спонтанно развивающейся катарактой и сцепленно с ней наследуемым синдромом преждевременного старения. Его проявлениями становятся сниженная на 28% по сравнению с исходной линией крыс Вистар продолжительность жизни и раннее развитие фенотипических проявлений старения и возраст-зависимых заболеваний на фоне ранней инволюции тимуса и снижения активности Т-клеточного звена иммунной системы. В тесном сотрудничестве с коллегами из Института региональной патологии и патоморфологии СО РАМН, Московского института глазных болезней им. Гельмгольца, Новосибирским научно-исследовательским институтом травматологии и ортопедии нам удалось показать, что развивающиеся у крыс OXYS изменения соответствуют основным критериям моделей таких заболеваний, как сенильная

катаракта, возрастная макулодистрофия и остеопороз. Проявления этих заболеваний воспроизводятся на клиническом и морфологическом уровнях и отвечают на стандартную терапию. Модель плодотворно используется для экспресс-оценки эффективности новых методов диагностики, лечения и профилактики ряда возрастных заболеваний и профилактики преждевременного старения.

Существенно расширить фундаментальные исследования по выяснению молекулярно-генетической природы преждевременного старения позволило сотрудничество с коллегами из МГУ в рамках проекта «Ионы Скулачева». При этом проект нацелен на решение практических задач: разработку фармакологических препаратов, способных осуществлять направленное воздействие на энергетические станции живой клетки — митохондрии, нарушая работу программы старения. Четырех месяцев испытаний на крысах OXYS оказалось достаточно, чтобы показать способность синтезированного под руководством академика В. П. Скулачева митохондриально-адресованного антиоксиданта SkQ («ионы Скулачева») предупреждать и(или) задерживать преждевременное старение и развитие связанных с ним заболеваний у крыс OXYS. Испытания, которые удалось провести за один год, продемонстрировали уникальный лечебный потенциал препарата, его способность не только предупреждать и задерживать развитие катаракты и дистрофии сетчатки, но снижать выраженность уже развитых патологических изменений вплоть до полного их исчезновения.



Тетрациклиновый выключатель

Для решения ряда задач исследователям нужно не просто выключить тот или иной ген, но добиться изменения его экспрессии в строго определенное время. В этой публикации намеренно не приведены результаты замечательных работ по использованию технологий подавления экспрессии генов путем введения так называемых *антимысловых* или *малых интерферирующих РНК* (*small interference RNA* — siRNA) — это отдельная важная тема. Основное внимание будет уделено трансгенным животным, имеющих благодаря искусству генных инженеров наследственно закрепленные свойства, благодаря которым можно управлять активностью конкретных генов с помощью достаточно простых фармацевтических средств.

Один из подходов к управлению экспрессией генов основывается на создании так называемых *генетических конструкторов*, в которых экспрессию гена контролирует *промотор* (участок ДНК перед самим геном), который запускается определенным лекарственным препаратом (*drug-inducible systems* (DIS) — генные системы, индуцируемые лекарством). Одна из первых систем такого рода основана на использовании тетрациклина (Tet) или его производного доксициклина. Генно-инженерные конструкции, регулируемые этими веществами, получили названия Tet-off или Tet-on, в зависимости от того, подавляется ли экспрессия гена удалением (off) или добавлением (on) антибиотика.

Работу подобных систем наглядно иллюстрирует генно-инженерная конструкция, в которой Tet-off или Tet-on системы регулируют экспрессию гена *зеленого флуоресцирующего белка* (*green fluorescence protein* — GFP), также внедренного в мышинный геном. В результате трансгенные зародыши, несущие подобные конструкции и пересаженные на ранней стадии развития самкам дикого типа, могут менять свою окраску в зависимости от поступления в их клетки доксициклина, который добавляется в питьевую воду матерям, их вынашивающих (Szulc et al., 2006). Контролируемая экспрессия GFP сохраняется и во взрослом состоянии,

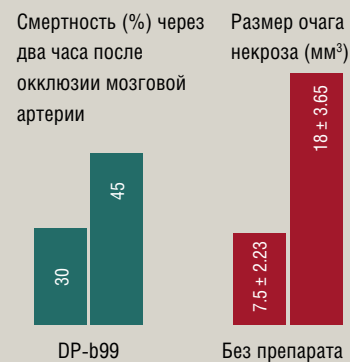


МАРКЕЛЬ Аркадий Львович — доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией эволюционной генетики Института цитологии и генетики СО РАН. Автор 320 публикаций

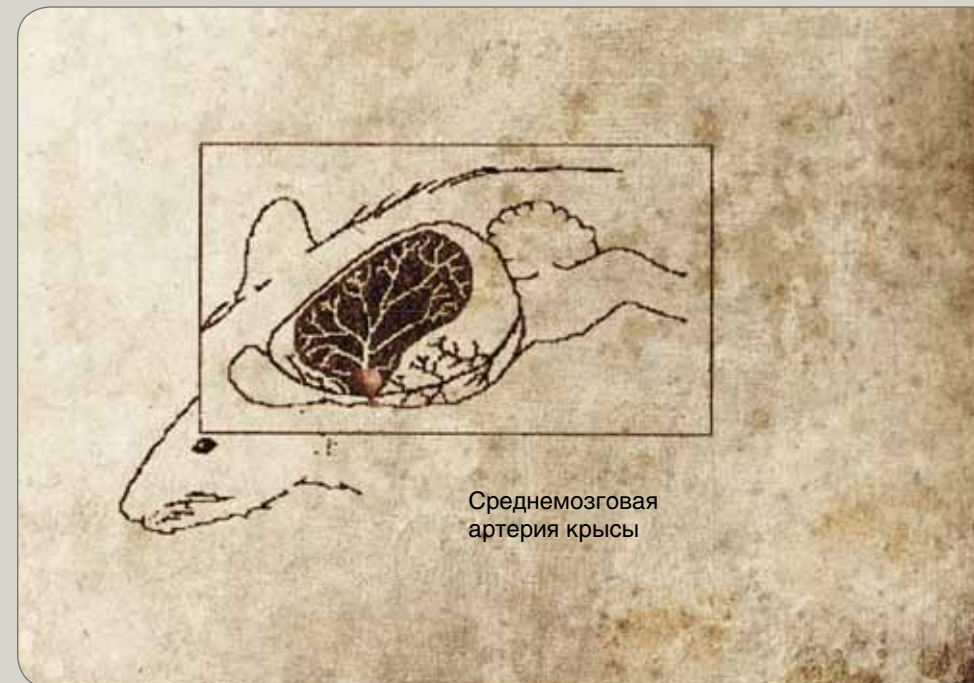
Селекция гипертоников

Гипертензивные крысы линии НИСАГ со стресс-чувствительной артериальной гипертензией получены в результате многолетней селекции по уровню артериального давления в условиях мягкого эмоционального стресса (Маркель, 1985; Markel, 1991). Исследования причин и генетико-физиологических механизмов формирования стресс-зависимой формы артериальной гипертензии показали, что у крыс НИСАГ действительно имеется генетически обусловленное повышение чувствительности к действию стрессирующих факторов, что выражается прежде всего в формировании стойкого гипертензивного статуса. При снижении порога реагирования на внешнюю стимуляцию повышение артериального давления происходит уже и в обычных «нормальных» условиях. Крылатое выражение Ганса Селье — основателя учения о стрессе, что «вся жизнь — это стресс», очень хорошо подходит для описания подобной ситуации.

О роли стресса как фактора, провоцирующего развитие гипертонической болезни у людей, пишут многие исследователи. При этом имеет значение как наличие генетической предрасположенности к усилению стрессовой реакции, так и все возрастающее давление стресса у популяций людей в индустриально развитых странах с высокой плотностью городского населения и чрезмерным уровнем конкуренции.



Нарушение кровотока в русле среднемозговой артерии у крыс линии НИСАГ с артериальной гипертензией ведет к развитию мозгового инсульта. Введение препарата DP-b99 сразу после развития инсульта значительно уменьшает очаг некроза и снижает смертность в первые часы после инсульта



Оказалось, что механизмы развития артериальной гипертензии у крыс линии НИСАГ адекватно отражают патогенез гипертонической болезни у людей в урбанистических популяциях. Соответствие обнаружено не только на уровне нейроэндокринных и морфофизиологических реакций, но и в характере поведения (высокая мотивированность к конкуренции за «жизненные блага», повышенная агрессивность и усиленная исследовательская активность).

Такая близость нашей экспериментальной модели гипертонической болезни к человеческой патологии позволяет использовать крыс линии НИСАГ не только для изучения механизмов формирования гипертензивных состояний, но и для поиска и испытания новых лекарственных препаратов для профилактики и лечения гипертонической болезни и ее осложнений. Как известно, одно из грозных осложнений гипертонической болезни — мозговой инсульт.

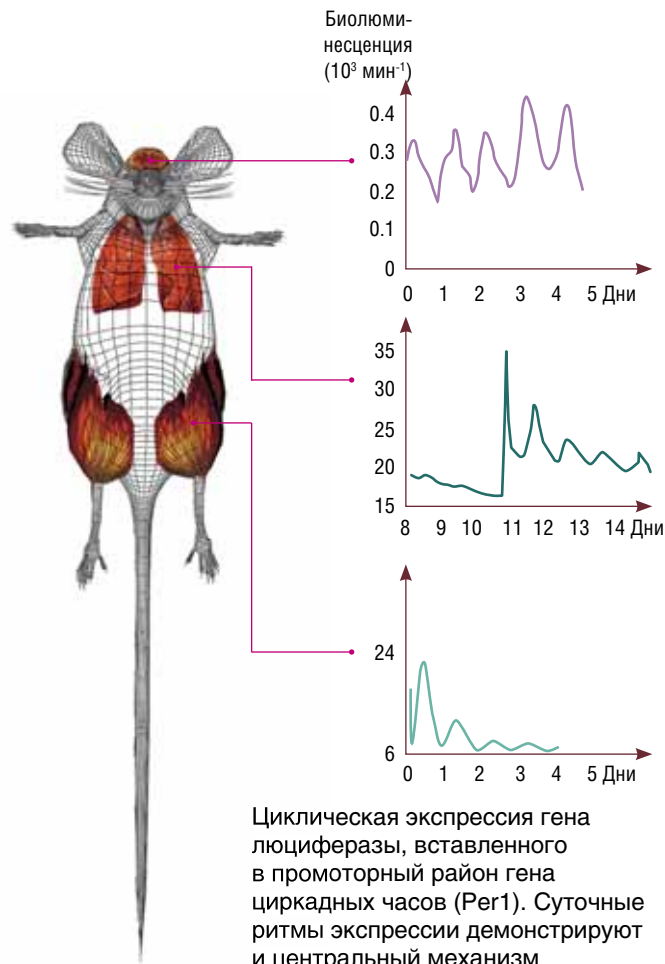
Оказалось, что крысы линии НИСАГ очень чувствительны к нарушениям мозгового кровообращения. Небольшие ограничения притока крови к определенным областям мозга способны привести у крыс НИСАГ к развитию обширного мозгового инсульта и даже к гибели животного. Это сделало их незаменимой экспериментальной моделью для поиска фармакологических препаратов для борьбы с инсультом.

Это обстоятельство послужило основанием для плодотворного международного сотрудничества. Фармацевтическая фирма D-Pharm (Rehovot, Israel), специализирующаяся на разработке новых противоинсультных препаратов, обратилась с просьбой испытать

новый синтезированный в лабораториях фирмы препарат на модели инсульта у крыс линии НИСАГ.

В результате большой экспериментальной работы, проведенной в лабораториях Института цитологии и генетики СО РАН, получены результаты, подтверждающие эффективность нового препарата. Эти результаты послужили основой для проведения клинических испытаний. В пресс-релизе, опубликованном фирмой 3 января 2007 г., приводятся следующие результаты. Закончена вторая фаза клинических испытаний препарата (условное название DP-b99). Препарат использовали для лечения 150 больных ишемическим мозговым инсультом от 7-й до 20-й степени по шкале NIH Stroke Scale (USA). Больные находились в 27 клиниках Германии, Южной Африки и Израиля. В группе больных, получавших препарат DP-b99, отмечено двукратное увеличение числа больных с полным восстановлением всех функций после перенесенного инсульта по сравнению с такой же группой больных, не получавших препарат DP-b99.

Таким образом, новая модель артериальной гипертензии, созданная в Институте цитологии и генетики СО РАН, уже принесла реальную пользу практической медицине. Именно опыты на крысах НИСАГ дали «зеленый свет» для проведения последующих клинических испытаний, которые оказались чрезвычайно успешными. Миллионы больных ждут появления новых эффективных препаратов в борьбе с этим страшным (нередко смертельным) осложнением гипертонической болезни — мозговым инсультом.



Циклическая экспрессия гена люциферазы, вставленного в промоторный район гена циркадных часов (*Per1*). Суточные ритмы экспрессии демонстрируют и центральный механизм биочасов — супрахиазматические ядра (SCN) и периферические органы и ткани. На рисунке суммированы данные, полученные на трансгенных мышах и крысах. По: (Hastings et al., 2003)



ПОПОВА Нина Константиновна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией нейрогеномики поведения Института цитологии и генетики СО РАН. Член Международного общества нейрогенетики поведения (IBANGS) и Serotonin Club. Автор более 350 научных работ

Генетический нокаут

Согласованная работа медиаторов и модуляторов мозга лежит в основе эмоционального состояния и поведения животных и человека. Эмоции, как и все известные формы поведения — агрессия, половое поведение, сон и бодрствование, привыкание и пристрастие к алкоголю и наркотикам, — реализуются действием определенных медиаторных систем с участием разных типов рецепторов к этим медиаторам. Беспрецедентные международные консорциумы «Геном человека» и «Геном мыши» показали значительное сходство этих геномов и сделали мышь излюбленным объектом генетики. Перед исследователями основного регулятора поведения — мозга — открылись принципиально новые возможности, связанные с поразительными успехами в расшифровке структуры генов и создании методов получения трансгенных и нокаутных мышей.

Стратегия генетического нокаута позволяет получать линии мышей с необратимым селективным повреждением конкретного гена и, соответственно, отсутствующим в организме животного специфическим белком — рецептором или ферментом метаболизма медиатора. Эта методология вызвала огромный интерес в результате чего были выведе-

МОНОАМИНОКСИДАЗА А

Фермент метаболизма серотонина, дофамина и норадреналина, которые регулируют:

- поведение;
- эмоции;
- реакцию на стресс

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ НОКАУТ MAO A

Увеличение в мозге уровня серотонина, дофамина и норадреналина. В результате:

- агрессивность, «асоциальность»;
- снижение исследовательского поведения;
- снижение реакции на стресс;
- устойчивость к алкоголю

дены уже более тысячи линий мышей с отсутствием какого-либо гена. Важнейшее достоинство стратегии генетического нокаута то, что она моделирует определенные типы наследственной невропатологии. Так, в середине 90-х гг. XX в. Бруннер (Brunner) описал обширное голландское семейство, в котором выявлены мужчины с признаками умственной недостаточности и проявлением импульсивной агрессии. У них была идентифицирована точечная мутация в восьмом экзоне локализованного в X-хромосоме структурного гена моноаминоксидазы А (MAO A) — одного из основных ферментов катаболизма медиаторов мозга серотонина, дофамина и норадреналина. А через год французские исследователи из Института Кюри были получили линию трансгенных мышей с необратимо разрушенным геном MAO A. При этом принципиально важно, что у линии мышей с отсутствующим геном MAO A обнаружены изменения в уровне серотонина, дофамина, норадреналина и их метаболитов, а также высокая агрессивность, сходные с описанными при точечной мутации этого гена у человека. Как показали наши исследования, для мышей с генетическим нокаутом MAO A характерно снижение исследовательского поведения и усиление разных видов агрессивного поведения. Важной особенностью нокаутных мышей является их асоциальность. «Нормальные» мыши интенсивно дерутся только в первые часы после создания новой группы, затем в сообществе устанавливается определенная иерархия и жестоких драк не происходит. В отличие от них, в группе MAO A-нокаутных драки не прекращаются, приводя к

гибели части животных. Другой особенностью мышей с отсутствующим геном MAO A является сниженная реакция на большинство видов острого стресса и на хронический стресс.

Важный вывод, вытекающий из уже известных данных по нокаутным мышам, заключается в том, что отсутствие одного рецептора или фермента, даже очень важного для функционирования нескольких медиаторных систем, каким является MAO A, не приводит к всеобщей дезорганизации регулируемых этими медиаторами функций. Стратегия генетического нокаута отчетливо демонстрирует менделевский принцип: один ген — один белок. Разрушение гена, контролирующего синтез определенного белка, приводит к полному отсутствию этого белка — фермента или рецептора в организме. Однако другой принцип: один ген — одно нарушение функции (one gene, one disorder) (Plomin et al., 1994), как правило, не выполняется.

Это соответствует распространенному как в генетике, так и в физиологии представлению о том, что любая сложная физиологическая функция или поведение регулируется не одним геном, а ансамблем генов и, соответственно, по крайней мере несколькими медиаторными системами. Все это свидетельствует о сложности и многофакторности регуляции любого адаптивно значимого вида поведения и огромных компенсаторных возможностях организма. Это делает нокаутных мышей не только уникальной моделью для изучения наследственных психопатологий, но и ценной моделью для выявления механизмов их компенсации.

о чем свидетельствует флюоресценция фибробластов, выделенных из ушных раковин взрослых трансгенных особей. Также экспериментально доказано, что подобные трансгенные конструкции, управляющие экспрессией GFP, передаются по наследству.

Но существуют еще более интересные приложения Tet-off/Tet-on систем. Оказывается, под управляемый доксициклином промотор можно поставить небольшой (40–50 оснований) палиндром, частично комплементарный к участку гена, интересующего исследователей. При экспрессии подобной конструкции будут нарабатываться так называемые *шпилечные РНК* (small hairpin RNA — shRNA), которые связываются с соответствующими комплементарными последовательностями синтезированной на гене матричной РНК, что приводит к разрушению последней и ингибированию синтеза белка (Szulc et al., 2006).

Таким образом, к настоящему времени созданы предпосылки для получения таких генно-инженерных систем, которые позволяют запускать или подавлять экспрессию нужного гена у лабораторной мыши в любой заданный момент времени простым введением антибиотика. К этому можно добавить, что имеются и другие трансгенные конструкции, обеспечивающие подавление экспрессии целевого гена или генов в нужном месте (тканеспецифическое управление работой генов).

Лучше один раз увидеть...

Упомянутый выше ген GFP используется не только для демонстрации работоспособности Tet-off/Tet-on-конструкций. Например, клетки, полученные от животных с постоянной экспрессией этого гена, можно наблюдать при их введении в организм, у которого этого гена нет.

Ярким примером подобного использования служат работы, посвященные изучению миграции плодовых клеток в материнском организме. Дело в том, что клинические исследования показали, что в тканях женщин можно обнаружить «мужские» клетки, несущие Y-хромосому (Bianchi et al., 1996). Единственный, не мистический путь появления подобных клеток в женском организме — их миграция через плацентарный барьер при вынашивании мальчика. Такой *микримеризм* послужил основой для дискуссии о патогенетической роли плодовых клеток, поскольку последние с большей вероятностью обнаруживаются у женщин, страдающих аутоиммунными заболеваниями (Johnson, Bianchi, 2004). Но чтобы ответить на вопрос, являются ли иммунологически чужеродные клетки причиной болезни или они лишь накапливаются в поврежденных тканях, необходимы детальные исследования перемещения этих клеток в материнском организме как в норме, так и при экспериментальных повреждениях.

Сделать это непросто, поскольку таких клеток немного, а Y-хромосома является хотя и надежным, но не слишком заметным маркером. Существенно облегчить решение сложной задачи могут все те же «зеленые» трансгенные мыши, производящие GFP. Для этого нужно лишь скрестить «зеленых» самцов с обычными самками, а затем проследить пути миграций GFP-экспрессирующих клеток в материнском организме.

С использованием этого подхода было, в частности, обнаружено наличие некоторого числа мужских клеток в тканях мозга самок, причем чаще всего они встречались в отделах, подвергнутых эксперименталь-

ному повреждению (Xiao-Wei Tan et al., 2005). Клетки плода были обнаружены в материнском организме спустя месяц после родов, причем некоторые из них дифференцировались в нейроны. Это позволяет предположить участие эмбриональных стволовых клеток в восстановлении поврежденных отделов материнского мозга. (Подобные научные сведения могут быть с пользой применены нашими политиками, агитирующими российских женщин рожать больше и чаще).

Применение трансгенных конструкций не ограничивается визуализацией движения клеток: оно также позволяет проводить прямую регистрацию экспрессии любых интересующих исследователя генов. В качестве примера можно привести работы из области регуляции циклических процессов, протекающих с суточным или околосуточным (циркадным) периодом в живых организмах. Еще в 1970-е гг. экспериментами на изолированных органах и тканях многоклеточных организмов доказано, что многие из последних обладают способностью к самостоятельной генерации суточных ритмов. Но как работают эти задающие ритм механизмы в рамках целого организма или, как это бывает в иерархически организованных колебательных системах, основную роль водителей ритма выполняет центральный механизм, а все периферические компоненты меняют свою функциональную активность под влиянием команд из центра?

Показателем самостоятельности периферических водителей ритма может быть цикличность экспрессии известных к настоящему времени *часовых генов*. Для наблюдения за уровнем генной экспрессии были созданы трансгенные мыши, у которых промотор одного из часовых генов (*Per1*) запускал также экспрессию гена люциферазы (фермента, катализирующего образование люминесцирующего продукта). При введении в организм субстрата для этого фермента с помощью оптического зонда можно было наблюдать активацию гена люциферазы. Оказалось, что интенсивность свечения при этом в разных органах варьировала с околосуточным периодом, что доказывает самостоятельность работы периферических компонентов часового механизма.

Мышь-биореактор

Выше упоминалось, что трансгенных мышей можно также использовать в биотехнологических циклах, хотя на первый взгляд этот грызун как продуцент чего-либо полезного выглядит достаточно сомнительно. Но неоспоримым достоинством мыши является то, что она



носит к наиболее освоенным объектам генной инженерии



АМСТИСЛАВСКИЙ Сергей Яковлевич — доктор биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий сектором криоконсервации и репродуктивных технологий Института цитологии и генетики СО РАН. Автор более 80 научных публикаций

Криоархивирование на примере куницеобразных

В настоящее время кроме *homo sapiens* на Земле обитает еще около 4600 видов млекопитающих. Численность многих из них стремительно сокращается, о чем убедительно свидетельствует Красная Книга (<http://www.redlist.org>). Приведем один конкретный пример: из 37 видов семейства Felidae, лишь судьба домашней кошки не вызывает опасения. Ареал же диких видов кошачьих непрерывно сокращается, многие из них уже занесены в Красную Книгу. Почти столь же остро стоит проблема и в других семействах отряда хищных (Carnivora). Список исчезающих видов куницеобразных, а именно об этом семействе пойдет речь в этом разделе, тоже достаточно впечатляющий (Schreiber et al., 1989).

В связи с тем, что традиционные методы сохранения млекопитающих *in situ* или *ex situ* требуют боль-

Детеныши, рожденные в результате трансплантации бластоцист европейской норки хонорику. Фото В. Циндренко

ших финансовых затрат, все более популярными становятся криобанки, в которых можно сохранять генофонд этих видов (Амстиславский, 2006).

Другая причина резко возросшей в последнее время популярности методов репродуктивной биотехнологии заключается в том, что стремительное увеличение числа трансгенных и нокаутных линий мышей создает необходимость их архивирования. Уже существует около тысячи линий крыс и около десяти тысяч линий мышей (Abbott, 2004).

Большая часть этих линий создана в результате трансгенеза, мутагенеза или нокаутирования отдельных генов. Предполагается, что в течение следующих двух десятилетий общее число мышинных линий достигнет 300 000. По образному выражению А. Эбботт, генетики должны готовиться к «потопу» (Abbott, 2004). Зарубежные специалисты по лабораторным животным единодушны в том, что проблему резкого возрастания числа линий лабораторных животных можно решить путем создания криобанка для сохранения этих ресурсов. В настоящее время уже создана Международная федерация генетических центров, снабженных криобанками. В них сохраняют замороженные эмбрионы и сперматозоиды, из которых по мере надобности можно путем эмбриотрансплантации и (или) искусственного осеменения восстановить требуемую линию. В эту федерацию — FIMRe (Federation of International Mouse Resources) вошли ведущие центры Северной Америки, Западной Европы, Японии и Австралии.

В настоящей статье мы расскажем о наших исследованиях, выполненных в содружестве трех институтов (Института цитологии и генетики СО РАН, Института систематики и экологии животных СО РАН и Института прикладной биотехнологии университета г. Куопио, Финляндия) по разработке репродуктивно-биологических подходов и криотехнологий, направленных на консервацию исчезающих видов куницеобразных.

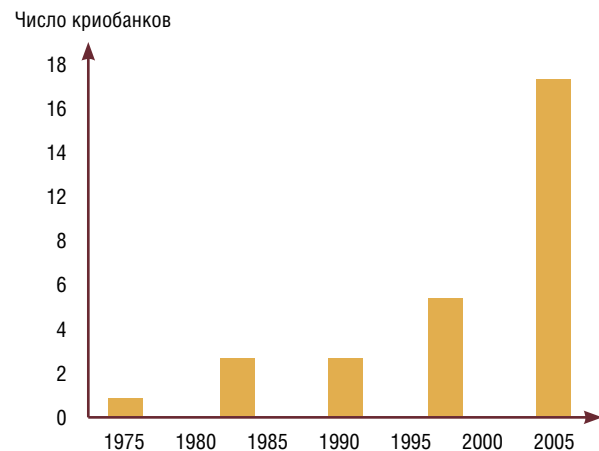
Работа по этому проекту изначально велась на хорьках и отчасти на горностаях. Цель первого этапа — показать, что эмбрионы куницеобразных



среди млекопитающих. Поэтому когда возникла идея получить человеческие антитела не от вакцинированных людей, а от других животных, ученые обратились именно к мышам. Были получены трансгенные животные, у которых мышинные гены, кодирующие легкие и тяжелые цепи иммуноглобулинов, были заменены на соответствующие гены человека (Jakobovits et al., 2007).

Создание таких животных шло в несколько этапов. Сначала были получены линии мышинных эмбриональных стволовых клеток, у которых путем нокаута инактивированы гены собственных иммуноглобулинов, а также линии, в которые были внедрены гены иммуноглобулинов человека. На основе этих линий получены трансгенные мыши. При их скрещивании выделена линия XenoMouse, у которой мышинные иммуноглобулиновые гены полностью замещены соответствующими генами человека.

Таким образом, появилась возможность использовать мышиную систему иммунного распознавания чужеродных антигенов для получения клонов В-лимфоцитов, вырабатывающих специфические иммуноглобулины человека. На их основе можно создавать *гибридомы* — клеточные линии, полученные путем слияния иммунных клеток с опухолевыми, которые производят моноклональные антитела по уже известной технологии.



В 1972 г. был открыт способ криоконсервации эмбрионов мышей, а в 1976—1978 гг. — заложен первый криоархив (в Джексоновской лаборатории, Бар Харбор, США) В 2005 г. — создана мировая федерация мышинных ресурсов (FIMRe), куда вошло 17 центров (Mammalian Genome, 2006)

Первыми такими иммуноглобулинами, прошедшими клинические испытания, стали антитела против интерлейкина-8, которые использовали для подавления иммунных процессов при обострении псориаза. Принципиально важным можно считать тот факт, что ни у одного из пациентов не было выявлено аллергической реакции на эти иммуноглобулины (Davis et al., 1999).

В настоящее время стадию предклинических и клинических испытаний проходят более десяти вариантов моноклональных антител, полученных с использованием трансгенных мышей линии XenoMouse.

В основном это антитела против различных факторов роста или их рецепторов, применение которых позволяет ограничить

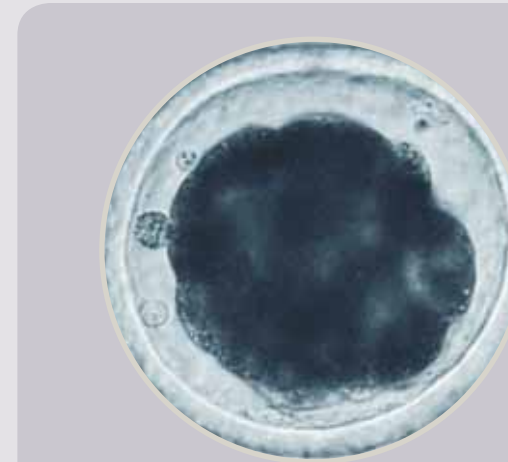
рост злокачественных опухолей, и даже более — вызывать их обратное развитие (Jakobovits et al., 2007).

В перспективе — мышинное наводнение

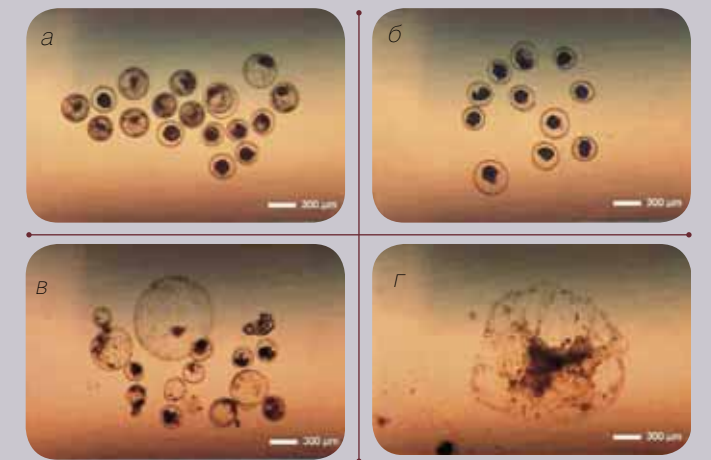
Итак, расшифровка геномов человека и многих лабораторных животных, вкупе с развитием генно-инженерных технологий, открыли практически неограниченные возможности для создания живых «экспериментальных моделей». Уже сегодня общее число генетических линий и сточков мышей, содержащихся в мировых центрах «мышеводства», перевалило за 20 тысяч.

И число их продолжает стремительно увеличиваться. Достаточно сказать, что один только проект КОМП (Knockout Mouse Project — Проект «нокаутные мыши»), организованный по инициативе Национального института здоровья США, нацелен на создание линий мышинных эмбриональных стволовых клеток с нокаутами по каждому гену. Таким образом, по завершению этого проекта будет получено около 25 тысяч новых клеточных линий (Austin, et al., 2004)! И произойдет это достаточно скоро: один из участников проекта (Wellcome Trust Sanger Institute) информировал, что его производственные мощности позволяют получать 5 тысяч клеточных линий в год.

В проекте также предусмотрено финансирование работ по оптимизации технологии получения нокаутных мышей на основе вновь созданных линий эмбриональных стволовых клеток; по информационному обеспечению; по развитию систем хранения и распределения мышей с различным генотипом. Всего в проекте участвует 19 институтов и научно-исследовательских центров, работающих в разных областях биологии и биомедицины.



Морула европейской норки (*Mustela lutreola*) при световой микроскопии. Темный цвет обусловлен обилием липидных гранул, из-за которых большинство попыток получения потомства после криоконсервации зародышей хищных заканчивалось неудачей. Фото Е. Кизиловой



Развитие эмбрионов хорька в культуре in vitro после криоконсервации:

- а. Эмбрионы хорька до замораживания.
 б. Те же эмбрионы после криоконсервации.
 в. Те же эмбрионы после четырех дней культивирования.
 г. На восьмой день культивирования один из зародышей прикрепился ко дну чашки Петри

способны переживать криоконсервацию при температуре жидкого азота, т.к. на момент начала проекта в мире не было ни одного позитивного результата. Более того, способ замораживания эмбрионов хищных млекопитающих вообще отсутствовал, была лишь одна успешная попытка: в 1988 г. Б. Дрессер с соавторами (США) получили живых котят из эмбрионов, которые хранились в криобанке (Dresser et al., 1988).

Задача этого этапа — поиск и разработка адекватных способов получения эмбрионов куницеобразных и их трансплантации. В качестве экспериментальной модели выбран черный хорек (*Mustela putorius*) и его одомашненная форма — хорек фуру (*Mustela putorius furo*), которые являются ближайшими родственниками исчезающей европейской норки. Кроме того, первые эксперименты по криоконсервации эмбрионов проводились нами также и на эмбрионах горностая (*Mustela erminea*) (Amstislavsky et al., 1996; Кизилова и др., 1998).

На уникальной ферме куницеобразных, основанной супругами Терновскими в конце 1960 — начале 1970-х гг. в Академгородке (Ternovskaya et al., 2006), нами проведены успешные трансплантации эмбрионов между разными хорьками. Показательны эксперименты по трансплантации эмбрионов между хорьком фуру и черным хорьком. Однако неоднократные попытки получить живое потомство после пересадки эмбрионов хорька, прошедших полный цикл «замораживания — криоконсервации — размораживания», не привели к желаемому результату.

В этот период мы полностью осознали, насколько капризны эмбрионы хищных в плане их заморозки и почему подавляющее большинство попыток замораживания эмбрионов псовых и кошачьих заканчивались неудачей. Дело в том, что в эмбрионах хищных (Carnivora) содержится много липидных гранул, которые чувствительны к процедурам криоконсервации. В эмбрионах же лабораторных грызунов и большинства видов сельскохозяйственных животных этих гранул существенно меньше. Именно по этой причине во всем мире большинство попыток получить потомство после криоконсервации зародышей хищных заканчивались неудачей.

К этому времени у нас накопился достаточный опыт и в изучении репродуктивной биологии куницеобразных, и в практической трансплантации эмбрионов разных видов млекопитающих. Более того, к этому моменту мы разработали оптимальную биологическую модель трансплантации эмбрионов хорька. В связи с этим С. Я. Амстиславский был приглашен в Институт прикладной биотехнологии университета г. Куопио (Финляндия) для участия в проекте по трансплантации и криоконсервации эмбрионов хорька.

Ранее автором было замечено, что основные (видимые в световой микроскоп) структурные нарушения эмбрионов хорька и горностая, подвергавшихся процедурам замораживания и криоконсервации, наступают лишь на этапе отмычки от криопротектора. Возникла идея исключить этот этап и сразу из соломины в среде,



С. Я. Амстиславский проводит трансплантацию эмбрионов хорька, подвергавшихся замораживанию и криоконсервации. В результате трансплантации родилось живое потомство. Фото Хели Линдеберг

содержащей криопротектор, пересадить эмбрионы в матку реципиента. Сложность осуществления задуманного заключалась в том обстоятельстве, что глицерин и ДМСО (диметилсульфоксид), которые использовались в качестве криопротекторов при замораживании эмбрионов, очень токсичны. Помог счастливый случай. Именно в это время начинал «входить в моду» этиленгликоль, менее токсичный криопротектор, который мы и решили попробовать вместо ДМСО и глицерина. Кроме того, еще в Новосибирске, нами отработывалась процедура трансплантации эмбрионов в минимальном объеме среды. Это «ноу-хау» оказалось особенно важным теперь, когда мы решили трансплантировать эмбрионы непосредственно в матку, минуя этап отмывки от криопротектора.

Уже в самом начале финского этапа международного проекта удалось получить обнадеживающий предварительный результат. Мы показали, что эмбрионы хорька, прошедшие цикл «замораживания—криоконсервации—размораживания» с этиленгликолем, способны возобновить дальнейшее развитие в условиях *in vitro* вплоть до завершающего этапа — имплантации (Amstislavsky et al., 2000).

Вскоре нам удалось получить и живых хорчат после криоконсервации эмбрионов. Именно «трансплантация без отмывки» оказалась наиболее успешной. После «трансплантации с отмывкой» также родились хорчата, но их было намного меньше, чем при первом (инновационном) подходе (Lindeberg et al., 2003). По-другому мы подробно исследовали биологическую модель трансплантации эмбрионов у этого вида (Lindeberg et al., 2002). Изучили, сколько эмбрионов нужно пересаживать реципиенту, на какой день псевдобеременности, какова должна быть точность синхронизации донора и реципиента и т. д. Все это было очень важно для успеха проекта, т. к. из практики работы на разных видах млекопитающих, в том числе на лабораторных и сельскохозяйственных, нам было хорошо известно, чем больше имеется эмбрионов перед началом замораживания и чем эффективнее отработаны методы их трансплантации, тем выше шанс получить позитивный результат (Амстиславский и др., 1991).

После пресс-конференции в 2001 г., наша группа стала своего рода знаменитостью в Финляндии. Результат, так впечатливший журналистов, действительно интересный. На тот момент это был первый в мире успех криоконсервации зародышей вида, принадлежащего к отряду Carnivora, не учитывая опыт с зародышами домашней кошки. Фотографии хорчат опубликовали во многих газетах, в том числе и в «Helsingin sanomat».

В дальнейшем мы возобновили эксперименты по эмбриотехнологии куницеобразных на базе фермы Терновских. Эти работы были поддержаны в 2002—2006 гг. совместным проектом Российской и Финской академий наук. То, что экспериментальная активность по проекту вновь переместилась в Новосибирск, было связано с важным обстоятельством: в мире существует лишь четыре фермы, где в неволе разводят ближайшего исчезающего родственника хорька — европейскую норку. Еще каких-то 100—150 лет назад ареал его распространения простирался по всей Европе и даже доходил до бассейна р. Оби (Schreiber et al., 1989; Терновский, Терновская, 1994). К настоящему времени от этого ареала остались лишь три «островка», а именно: западная популяция в Пиренеях, южная популяция в дельте р. Дунай и северо-восточная популяция в России и Белоруссии.

Однако, несмотря на осознание проблемы научной общественностью и экологами, исчезновение этого вида продолжается.

Размножающиеся в неволе европейские норки становятся главным гарантом того, что этот вид полностью не исчезнет, и именно эти особи, способные размножаться в неволе, станут основой для изучения репродуктивной биологии данного вида и экспериментов по реинтродукции в природу (Терновский, Терновская, 1994).

Европейскую норку разводят в неволе в Эстонии, Германии, Испании, но в новосибирском Академго-

Один из первых выводков, полученных в 1998 г. после трансплантации эмбрионов хорька, прошедших полный цикл «замораживание — криоконсервация — размораживание». Фото Хели Линдеберг



родке это стали делать первыми в мире. И несмотря на то, что инвестиции в зарубежные фермы (особенно в недавно отстроенный центр в Испании) несравнимы с затратами на поддержание фермы Терновских, именно здесь плодовитость при размножении данного вида остается наиболее высокой по сравнению с зарубежными (Ternovskaya et al., 2006). Тиит Маран — один из лидеров в области сохранения европейской норки, руководитель центра в Эстонии, где этого зверя также разводят в неволе, и, пожалуй, один из самых авторитетных экспертов по этому виду в мире (<http://www.lutreola.ee/>), не перестает этому удивляться!

Именно на базе фермы Терновских, начиная с 2002 г., мы сосредоточились на изучении репродуктивной биологии европейской норки и разработке эмбриотехнологических подходов к консервации этого вида. Мы попробовали создать эффективную модель трансплантации эмбрионов гибридам европейской норки и хорька. Таких гибридов, носящих название хонорики и нохорики, в течение многих лет получают на ферме ИСиЭЖ СО РАН. Хонорики — гибриды самца хорька и самки европейской норки — впервые были получены супругами Терновскими (Терновский, Терновская, 1994). Этот метод широко вошел в практику, и сейчас слово «хонорик» уже никого не удивляет. Обратное скрещивание — самки хорька с самцом норки, — впервые осуществлено в 2001 г., и пока «нохорики» получены только на ферме Терновских (Ternovskaya et al., 2006).

Гибридизация хорька и норки может наблюдаться и в природе. Кстати, это явление считают одной из причин исчезновения европейской норки. Мы попытались

обратить феномен гибридизации с хорьком во благо исчезающего вида и добились успеха.

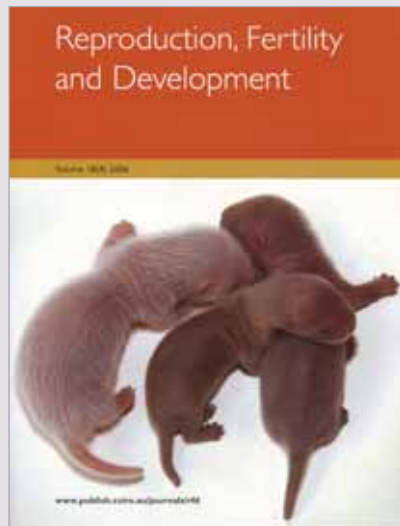
В 2002—2004 гг. мы трансплантировали в общей сложности 56 эмбрионов норки девяти самкам хонорика. При этом родилось 28 детенышей. Кроме того, 16 эмбрионов европейской норки трансплантировали трем самкам нохорика, из которых родилось 8 норчат. Таким образом, при обоих типах трансплантации эффективность составила 50%. (Amstislavsky et al., 2004, 2006).

Один раз мы пересадили самке хонорика 5 эмбрионов норки и 5 эмбрионами хорька. В итоге на свет появился выводок, состоящий из норчат и хорчонка. Этот результат так понравился редакторам журнала «Reproduction Fertility and Development», что фотография этого выводка была вынесена на обложку журнала. (Amstislavsky et al., 2006)

И в самом деле, случай уникальный: родными, а точнее, единоутробными братьями и сестрами стали представители разных видов — хорька и норки.

Несмотря на эти успехи остаются еще важные проблемы, требующие решения. Так, например, эффективность криоконсервации эмбрионов куницеобразных остается пока низкой: лишь 11% эмбрионов хорька подвергшихся «замораживанию—криоконсервации—трансплантации», развились в живых хорчат. Это гораздо ниже эффективности процедур трансплантации для лабораторных или некоторых сельскохозяйственных животных.

Кроме того, прямая трансплантация между европейской норкой и хорьком пока не приводит к рождению потомства. При попытках межвидовой трансплантации эмбрионов, даже между близкородственными видами чаще всего возникают проблемы, обусловленные



Реальный опыт применения репродуктивных технологий для сохранения генофонда. На примере куницеобразных

различием гормональных и иммунных механизмов поддержания беременности у этих видов. Для преодоления межвидового барьера необходимо хорошо изучить их репродуктивную биологию (Амстиславский, 2006).

В заключение хотим отметить, что в результате этого проекта впервые показана принципиальная возможность криоконсервации эмбрионов куницеобразных и создана модель трансплантации эмбрионов исчезающего вида — европейской норки. Следует отметить, что наши разработки высоко оцениваются. В 2003 г. на Первой международной конференции по сохранению европейской норки (Logrono, Spain) это направление было одобрено и получило официальное признание в резолюциях конференции.

В 2008 г. нами получен грант РФФИ (№ 08-04-49088) для изучения межвидового репродуктивного барьера между европейской норкой и хорьком и разработки подходов к его преодолению, и уже есть первые результаты (Amstislavsky et al., 2008). Эти успехи дают надежду на

дальнейшее развитие этого направления, а также на то, что на базе изучения специфики репродуктивной биологии этого вида и его ближайших сородичей рано или поздно будет создан оптимальный пакет репродуктивных технологий, который позволит сделать криобанк эмбрионов одним из основных инструментов сохранения европейской норки.

Другим основанием для оптимизма является то, что американский сородич европейской норки, черноногий хорек (*Mustela nigripes*), который еще недавно считался исчезающим видом, и даже существовало убеждение, что он безвозвратно исчез, в настоящее время практически находится вне опасности (Grenier et al., 2007). А ведь именно серьезное изучение репродуктивной биологии этого вида куницеобразных, отработка методов разведения в неволе и ре-интродукции, а также применение репродуктивных биотехнологий как ключевого элемента всей программы обеспечило этот успех.

Литература

- Амстиславский С.Я. и др. Методы биотехнологии в практике разведения животных. — Новосибирск: Изд-во ИЦиГ, 1991. — 170 с.
- Амстиславский С.Я. Эмбриотехнологические подходы к сохранению исчезающих видов млекопитающих: дисс. д-ра биол. наук. — Новосибирск, 2006. — 265 с.
- Кизилова Е.А. и др. Влияние криоконсервации на морфологию бластоцист хорька // Онтогенез. — 1998. — Т. 29. — С. 1–8.
- Терновский Д.В., Терновская Ю.Г. Экология куницеобразных. — Новосибирск: Наука, 1994. — 223 с.
- Abbott A. Genetisists prepare for deluge of mutant mice // Nature. — 2004. — N. 432. — 541 p.
- Amstislavsky S. et al. Embryo cryobanking for conserving laboratory and wild animal species // Scand. J. of Lab. Anim. Science. — 1996. — N. 23. — P. 269–277.
- Amstislavsky S. et al. Ex-situ preservation of Mustelidae: primer of application of genetic resource bank concept with the use of polecats as the model species // Scientifur. — 2000. — N. 24. — P. 45–58.
- Amstislavsky S. et al. Transfer of European mink (*Mustela lutreola*) embryos into hybrid recipients // Theriogenol. — 2004. — N. 62. — P. 458–467.
- Amstislavsky S. et al. Embryo development and embryo transfer in the European mink (*Mustela lutreola*), an endangered mustelid species // Reprod. Fert. Dev. — 2006. — N. 18. — P. 459–467.
- Amstislavsky S. et al. Conservation of the European Mink (*Mustela lutreola*): Focus on Reproduction and Reproductive Technologies // Reprod. Domest. Anim. — 2008. — N. 43. — P. 502–513.
- Dresser B.L. et al. First successful transfer of cryopreserved feline (*Felis catus*) embryos resulting in live offspring // J. Exp. Zool. — 1988. — N. 246. — P. 180–186.
- Grenier M.B. et al. Rapid population growth of a critically endangered carnivore // Science. — 2007. — N. 317. — 779 p.
- Lindeberg H. et al. Surgical transfer of in vivo produced farmed European polecat (*Mustela putorius*) embryos // Theriogenology. — 2002. — N. 57. — P. 2167–2177.
- Lindeberg H. et al. Surgical recovery and successful surgical transfer of conventionally frozen-thawed embryos in the farmed European polecat (*Mustela putorius*) // Theriogenology. — 2003. — N. 60. — P. 1515–1526.
- Schreiber A. et al. Weasels, Civets, Mongooses and their relatives. An action plan for conservation of Mustelids and Viverrids. — USA: Kelvin Press, 1989. — 99 p.
- Ternovskaya Y. et al. Strategies for European mink preservation: International Conference on Conservation of European Mink. 5–8, 2003, Logrono, Spain, Proceedings Book // Gobierno de la Rioja, 2006. — P. 267–279.

К вышесказанному следует добавить, что работы по созданию коллекций эмбриональных стволовых клеток мышей с нокаутами по разным генам сегодня ведутся в Европе, Канаде и Японии. Иными словами, реальность получить в недалеком будущем настоящее мышье «наводнение» уже не вызывает сомнений.

Помимо трансгенной технологии, важным источником генетического разнообразия модельных животных являются *точечные мутации*. Их получают при введении животным *N*-этилнитрозомочевины (*N-ethylnitrosourea* — ENU): этот химический мутаген вызывает единичные замены нуклеотидных оснований, что может оказать значимое влияние на функцию конкретного гена.

Достоинством данного метода является его простота: для получения точечной мутации достаточно однократной инъекции ENU. Однако в отличие от генотипов, полученных с использованием генно-инженерных технологий, местоположение мутации, вызванной химическим мутагеном носит случайный характер. Поэтому требуется проведение значительной работы по ее идентификации, которая начинается с отбора мышей, чей фенотип представляет интерес для дальнейших исследований.

Наиболее масштабные работы по созданию таких генетических моделей мышей выполнены в рамках Мюнхенского ENU проекта. Особо стоит отметить экспресс-методы фенотипического описания мышей, которые были разработаны при его реализации (стандартный протокол фенотипирования включал в себя 135 морфологических, поведенческих и физиолого-биохимических параметров).

Один из наиболее удачных стандартизированных протоколов первичного описания животных, который сейчас используется в разных странах мира, предложен британскими учеными. Он известен по аббревиатуре SHIRPA, в которой последние две буквы (*phenotype assessment*) относятся к содержанию методического подхода, а остальные ведут происхождение от названий университетов и колледжей, в которых протокол разработан.

SHIRPA позволяет в течение 15 минут описать мышь по 58 параметрам, отражающим основные экстерьерные характеристики, показатели двигательной активности и некоторые рефлекторные реакции. Отклонение по этим параметрам является индикатором фенотипически значимых мутаций в генах, контролирующих рост и

развитие животных, работу нервной и нервно-мышечной систем. Этот первичный анализ затем дополняется гематологическими, иммунологическими, биохимическими и эндокринными данными. На следующем этапе животные, отобранные на основе фенотипического скрининга, подвергаются генетическому анализу, который позволяет установить точную локализацию нуклеотидной замены и, соответственно, определить ген, в котором произошла мутация.

Всего с момента основания Мюнхенского проекта (1997) и до настоящего времени проведен скрининг более чем 30 тысяч мышей и получено более 750 линий, на которых проводятся исследования генетических основ отклонений в строении тела, предрасположенности к аллергиям, нарушениям нервной деятельности и обмена веществ.

Помимо полученных в последние годы трансгенных и мутантных мышей и крыс никто не сбрасывает со счетов другие генетические линии животных, полученные в результате направленной селекции, которые традиционно поддерживаются в вивариях. Некоторые из них являются уникальными объектами для изучения генетических механизмов таких социально значимых болезней, как артериальная гипертензия, преждевременная старость, психические расстройства и др. Кроме того, эти линии неопределимы для испытаний новых лекарственных препаратов и при разработке немедикаментозных средств профилактики и лечения болезней.

К имеющемуся списку животных-моделей следует добавить *панели рекомбинантных линий*, которые широко используются в генетике количественных признаков.

Таким образом, с помощью разных методов уже сегодня получены тысячи генетических линий лабораторных мышей. А согласно прогнозу, опубликованному четыре года назад в Nature, к 2025 г. их число достигнет 300 тысяч и, как пишет автор статьи, генетики уже сегодня готовятся к «мышьному потоку» (Abbot, 2004).

Строим криодамбы*

В соответствии с общепринятыми нормами для поддержания одной линии мышей «в живом разведении» требуется 10–12 пар племенных животных и, как минимум, 50 голов ремонтного молодняка. Все это количество можно разместить примерно в 3 м³ виварного помещения. Пока речь идет о десятках генотипов, такой подход кажется вполне приемлемым, но если

* Этот и следующий разделы написаны совместно с С.Я. Амстиславским



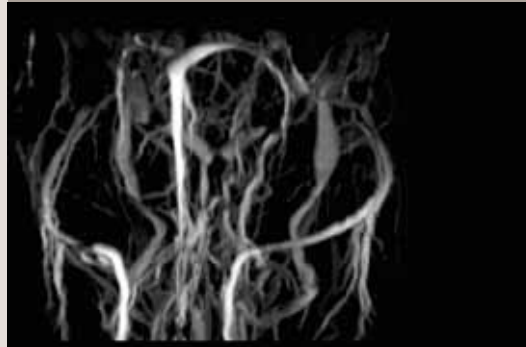
СОЛЕНОВ Евгений Иванович — доктор биологических наук, доцент, старший научный сотрудник Института цитологии и генетики СО РАН. Лауреат премии Л. А. Орбели, 1998 г. Автор 92 научных работ

«Видеть насквозь»

У многих людей эксперименты на животных ассоциируются исключительно с вивисекцией, хотя бы и под анестезией. Это неверно. К настоящему времени создано множество методов, позволяющих исследовать животных, их различные формы поведения, физиологические и биохимические процессы без существенного вреда для жизни животного и даже без ущерба его здоровью. Прогресс в развитии таких подходов связан не столько постепенным развитием морали в человеческом обществе, сколько из прагматических соображений — научные данные, полученные на нетравмированном, здоровом животном наименее искажены артефактами эксперимента. Многие из этих методов имеют значительную историю, и их современное развитие связано главным образом с обеспечением комфортных условий для экспериментального животного и для самого экспериментатора. Наряду с совершенствованием традиционных методов, в последние годы достигнуты впечатляющие успехи в разработке принципиально новых подходов к визуализации внутренних структур и внутренних процессов.

Лидирующие позиции здесь занимает томография, которая позволяет получать изображение внутренних органов слоями и воссоздавать с помощью компьютера их трехмерное изображение. В зависимости от физических принципов, заложенных в эти приборы, они «видят» разные ткани организма по-разному. Так ткани мозга содержат относительно много воды (здесь Аристотель был прав), и, следовательно, атомов водорода, поэтому мозг лучше «разглядывать» с помощью ЯМР-томографа. Для мышей, имеющих малые размеры, необходимо иметь и соответствующие «мышинные» приборы. И такие машины созданы. Инженеры сумели повысить разрешение ЯМР-томографов до десятков микрон (!) — неплохая точность даже в масштабах мышинных органов. Каждый такой прибор очень дорогой и не посилен для академической лаборатории, занимающейся фундаментальными исследованиями. Таким прибором может владеть только центр коллективного пользования, который сделает исследования доступными для многих лабораторий. И здесь в очередной раз становится очевидным обеспечение дорогостоящих экспериментов высококачественными стандартизированными животными, использование которых позволяет получить надежные результаты при небольшом количестве повторов.

Чего ради идти на такие траты? Ради возможности изучать все более глубокие фундаментальные процессы жизни организма. Один из самых современных образцов такого инструмента — Bruker Bio Spin, который предполагается приобрести для комплектации ЦКП генетических моделей, обладает программами, позволяющими выделять движущиеся ткани: кровь, сердечную мышцу, и открывают заманчивые возможности исследования на живой нетравмированной мышце. Этот же прибор, точнее приборный комплекс, способен допол-



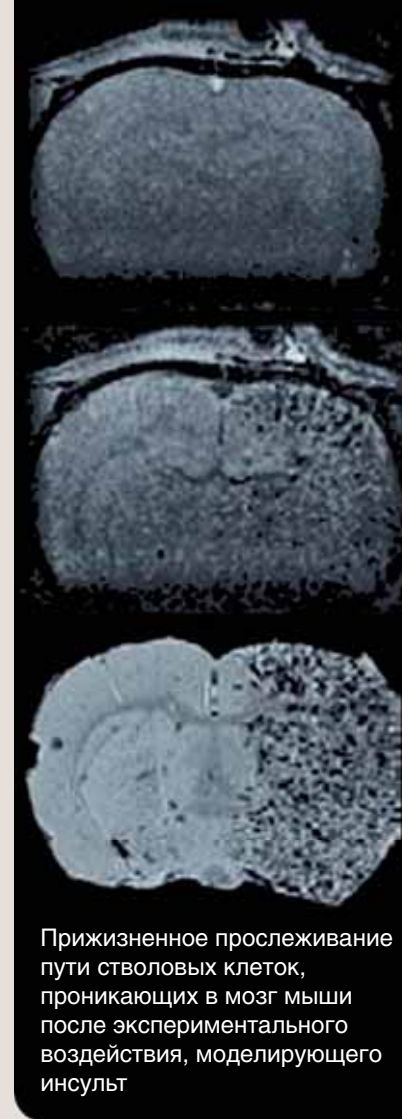
Картина движущейся крови в мозге крысы

нить информацию, получаемую в новой, считающейся очень перспективной, области радиомедицины, томографии с применением позитрон-эмитирующих изотопов (PET). Есть еще исключительно привлекательная функция, заложенная в современный исследовательский ЯМР-томограф, это его способность проводить спектроскопический анализ вещества в заданной точке живого нетравмированного организма.

Значительный прогресс происходит и в методах оптического исследования организма. Тенденция та же, поиск путей исследовать животное, сохраняя ему жизнь, а по возможности и комфорт. Светочувствительные приборы, способные регистрировать отдельные кванты света, позволяют видеть светящиеся молекулы-трассеры прямо сквозь ткани мышцы, правда, мышца должна быть как минимум белая, а лучше и вовсе голая, такие тоже бывают. Сейчас уже проводятся исследования роста и метастазирования опухолей, клетки которых мечены генами, производящими светящийся белок — люциферазу. Однако возможно оптическое наблюдение белков, которые сами в обычных условиях света не производят, но генерируют его в результате возбуждения внешним излучением. Такой индуцированный свет позволяет видеть молекулярные структуры, которые его излучают даже сквозь ткани организма. Аппаратура, позволяющая вызывать и регистрировать излучение нативных молекул в клетках или межклеточном пространстве, в толще тканей (при этом особенно интересуются мозгом) сейчас считается очень перспективной и разрабатывается во многих ведущих медицинских университетах мира. Традиционное рентгеновское исследование в настоящее время также получило новые функции. Появилась аппаратура, способная анализировать спектральный состав проходящих X-лучей и на этой основе изучать состав костной, жировой и других тканей, что необходимо при исследовании моделей ряда заболеваний, связанных с нарушением минерального и жирового обмена. Одновременно с развитием исследований организма с применением электромагнитных излучений, о которых говорилось выше, развивались и совершенствовались традиционные инвазивные методы. Многие из них сейчас уже нельзя называть кровавыми, настолько незначительны повреждения в организме при их применении.

Для решения многих прикладных и фундаментальных задач исследователям необходимо знать концентрацию тех или иных веществ в изучаемой ткани или, наоборот, вводить заданные количества препаратов в определенные органы. Причем желательно это делать незаметно для животного, и уж точно эта процедура должна быть безболезненна. Традиционно это делалось, в лучшем случае, методом биопсии — процедуры для которой часто применялся наркоз. Сейчас же создан спектр микродиализных приборов, которые могут безболезненно находиться в теле постоянно и позволяют брать пробы тканевой жидкости или вводить тестируемое вещество незаметно для животного.

Закончить этот краткий обзор некоторых современных методов, применяемых в биомедицинских исследованиях хочется на философской ноте. Все, даже самые



Прижизненное прослеживание пути стволовых клеток, проникающих в мозг мыши после экспериментального воздействия, моделирующего инсульт

лучшие методы имеют и свои отрицательные стороны. Для тех методов, о которых говорилось выше, положительная сторона — это их эффективность, а отрицательная — дороговизна и сложность применения. Для проведения исследований такими методами надо вкладывать значительные средства в приборы, воспитывать специалистов высокого уровня и оплачивать их работу. Но результаты окупают все. Вспоминается библейская притча о талантах, где говорится, что больше добавится тому, кто богаче...

речь идет о тысячах и сотнях тысяч линий, то поддержание мышинных ресурсов в форме племенных ядер становится невозможным. Выход из тупикового положения — это создание криоархивов.

Сегодня коллекции генетических линий животных могут сохраняться в виде замороженных эмбрионов, сперматозоидов, яйцеклеток и даже яйчниковой ткани. Однако ведущие архивы генотипов делают ставку прежде всего на эмбрионы. Эмбрион — диплоидный организм, тогда как сперматозоиды и яйцеклетки гаплоидны, поэтому для полноценного архивирования генетической линии можно консервировать либо эмбрионы, либо гаметы обоего пола. Первый путь экономически более оправдан, поскольку второй предполагает еще один технологический этап: размороженные сперматозоиды и яйцеклетки должны соединиться, чтобы образовать эмбрион.

Эмбрион — это уже особь. И хотя эта особь состоит всего лишь из нескольких клеток, у него уже есть программа развития, закодированная в геноме. Поэтому для восстановления линии достаточно трансплантировать размороженные эмбрионы самкам-реципиентам, где они продолжают свое развитие. Большинство экспертов сходятся на том, что для надежной консервации требуется 200—500 эмбрионов. Однако как свидетельствует мировой опыт, генетическую линию удастся иногда восстановить всего лишь из 20 эмбрионов.

Полтысячи эмбрионов легко упаковываются в объем около 0.3 л, что на четыре порядка меньше, чем объем, необходимый для поддержания линии живых мышей. Кроме того затраты на корм, подстилку и обслуживание существенно дороже, чем затраты на консервацию (жидкий азот и его регулярную доливку в сосуд Дьюара).

Но как долго можно сохранять эмбрионы в замороженном состо-



криобанке, нисколько не потеряли своей способности «оживать».

Поучительна и история, связанная с созданием первого в мире (и пока самого крупного) криобанка мышинных генотипов Джексонской лаборатории (США). Поводом к его строительству стал пожар, случившийся в 1947 г., который уничтожил значительную часть коллекции традиционно разводимых там линейных животных. Поэтому как только технологии криохранения эмбрионов мышей были разработаны, их тотчас же реализовали в этом мировом генетическом центре. И когда в 1989 г. в лаборатории случился еще более разрушительный пожар (он бушевал более пяти часов и унес жизни около полумиллиона мышей), криобанк стал настоящей «палочкой-выручалочкой». Ведь некоторые линии мышей существовали лишь в коллекции лаборатории так что восстановить их можно было лишь из собственного криобанка.

Пример Джексонской лаборатории оказался заразителен, и криоархивы стали создаваться в других генетических центрах. Сегодня их число приближается к двадцати. В японских центрах предусмотрен даже резервный банк на случай повреждения основного криохранилища при землетрясении. Например, Центр биоресурсов общества РИКЕН (BRC RIKEN) имеет основной криобанк в г. Тсукубе, а также резервный в 400 км к юго-западу (для последнего выделено место в одном из помещений синхрофазотрона, смонтированного на мощном фундаменте).

Однако криоархивы не только помогают при стихийных бедствиях. Ведь при размножении традиционным способом в генетической линии неизбежно накапливаются мутации. Кроме того, как и все живые существа, мыши подвержены инфекциям. Поэтому криобанк эмбрионов необходим не только для восстановления линии, погибшей от инфекции или несчастного случая, но и для поддержания ее чистоты.

Свободные от патогенов

Расширение возможностей создания живых генетических «моделей» идет бок о бок с ужесточением требований к организации работы с экспериментальными животными. Наиболее дорогим и трудновыполнимым требованием является обеспечение условий для содержания животных, свободных от основных видоспецифических возбудителей болезней (*specified pathogen free* — SPF).

Для чего нужны такие животные? Благодаря избавлению от инфекций устраняется практически не поддающийся контролю источник вариации экспериментальных данных, в результате надежность получаемых результатов значительно повышается. Поэтому



В Сибирском центре генетических моделей на животных, строительство которого по плану завершится уже в 2009 г., SPF-животных будут содержать по всем международным стандартам. Это помещение уже в скором времени станет стерильным и в нем будут стоять стеллажи с клетками

согласно международным правилам (GMP и GLP стандарты) именно SPF-животные должны использоваться при проведении доклинических испытаний лекарственных препаратов и оценки биобезопасности новых материалов, включая продукты питания.

Стандартизация как условий содержания, так и самих лабораторных животных позволяет существенно сократить размеры экспериментальных групп. Неслучайно в нашей стране SPF-животных впервые стали использовать при изучении воздействия на организм космического полета (императивом к уменьшению числа экспериментальных животных в этом случае служили ограничения, накладываемые размерами космических аппаратов).

Помимо всего прочего, снижение количества объектов исследования без ущерба для качества экспериментов и улучшение условий содержания животных отвечает этическим требованиям.

Еще одной причиной, заставляющей прикладывать значительные усилия для избавления от патогенов, заключается в том, что некоторым генетическим линиям животных свойственна повышенная восприимчивость к болезням. В частности, для решения многих задач иммунологии требуется выключить отдельные звенья иммунной системы, что делает животных беззащитными по отношению к неизбежным в естественных условиях возбудителям болезней. Иллюстрацией к этому служит приведенная выше работа по мышам, производящим человеческие антитела. Промежуточным этапом при получении таких животных были мыши с нокаутированными собственными генами иммуноглобулинов, т. е. мыши, способные погибнуть от любой, даже неопасной, инфекции.

Для обеспечения SPF-стандарта лабораторных животных содержат в чистых помещениях, в которые под избыточным давлением подается стерильный воздух. Корм, вода, подстилка и клетки поступают в чистую зону вивария после предварительной стерилизации. В той же Японии корма обеззараживают гамма-облучением, а все остальное пропускается через автоклавы. И поскольку мышь не является нано-объектом, несмотря на небольшие размеры, объем клетки для содержания 5–6 мышей составляет около 5 л. И регулярное автоклавирование 1–2 тыс. клеток требует оборудования соответствующих габаритов.

Все вышеперечисленное привело к тому, что в развитых странах работу вивариев обеспечивает индустрия, производящая стеллажи, клетки, полки, корма, подстилку и даже специальные «игрушки» для развлечения



И. И. Гейци, — управляющий проектом строительства Сибирского центра генетических моделей животных, рассказывает о принципе сообщения между стерильным помещением и внешним «грязным» коридором. Разработкой этого шлюзового отсека занимались специалисты, которые проектировали подводные лодки

Для обеспечения SPF-стандарта лабораторных животных содержат в чистых помещениях, куда под избыточным давлением подается стерильный воздух. Корм, вода, подстилка и клетки поступают в чистую зону вивария после предварительной стерилизации

янии? На основе накопленного в мире опыта можно уверенно утверждать, что если консервация произведена правильно, то не важно, сколько времени эмбрионы хранились в жидком азоте — несколько секунд или десятки лет. Так, британский ученый Д. Уиттингем с коллегами (в 1972 г. именно они открыли способ заморозки эмбрионов мышей) продолжают и сегодня получать мышей с использованием эмбрионов, замороженных «впрок» более 30 лет назад: эмбрионы, хранящиеся в



шения с вкладчиками в криоархивы FIMRe и пользователями регулируются на основе соглашений о передаче материалов. При этом вкладчики получают следующие преимущества:

- гарантии авторских прав;
- освобождение от затрат на сохранение и распространение генетической модели;
- надежное хранение;
- и, наконец, как подсчитали в японском центре BRC RIKEN, у вкладчиков повышается индекс цитирования более, чем на 88%.

При передаче созданных «генетических моделей» пользователям учитывается ведомственная принадлежность последних. Например, в Японии университетские и академические лаборатории оплачивают только себестоимость разведения и содержания животных; для коммерческих же организаций плата выше на 30%. Но в обоих случаях поступления от продажи животных не покрывают расходы на поддержание самих генетических центров. Поэтому большинство из них финансируется из федеральных бюджетов государств, проявляющих реальную заботу о развитии высоких технологий в области здравоохранения.

Создание сети международных центров, объединяемых FIMRe дало весомый вклад в изучение генетических основ функционирования организмов в норме и при патологии, а также в поиск оптимальных средств профилактики и лечения болезней. Сегодня исследователям предлагается следующий алгоритм взаимодействия с мировыми генетическими архивами: формулирование потребности в экспериментальных животных с

заданными свойствами, поиск нужного генотипа в базе данных FIMRe, заказ животных через ближайший Центр, ассоциированный FIMRe, получение Центром заказанной линии, разведение и передача животных заказчику.

При этом в настоящее время уже намечается отчетливая тенденция сокращения обмена племенными животными в пользу обмена криопродуктами. Можно предсказать, что реализация проектов, подобных КОМР, приведет к включению в мировой оборот модельных организмов линий эмбриональных стволовых клеток с заданными изменениями генотипа, а затем и генно-инженерных конструкторов, которые можно будет заказать по каталогам, как любой химиреактив. Это особенно эффективно с точки зрения биобезопасности, поскольку риск трансграничного обмена нежелательными микроорганизмами невозможно исключить при самом тщательном контроле за перевозкой живых организмов.

Но все эти блага прогресса будут доступны только тем странам, в которых будут существовать Центры, обеспечивающие полный цикл работы с генетическими ресурсами, т. е. имеющие в своем составе крио-

банк, лаборатории репродуктивных технологий и трансгенеза, и в которых племенное разведение и содержание животных будут проводиться в соответствии с SPF- стандартом.

А что в России?

Единственный на сегодня в России питомник SPF-животных, сертифицированный в соответствии с международными стандартами, расположен в Пущинском научном центре неподалеку от Москвы. В Питомнике лабораторных животных Филиала Института биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН поддерживается около дюжины наиболее «ходовых» линий мышей, несколько линий крыс и одна линия сирийских хомячков. Помимо воспроизводства экспериментальных объектов в питомнике налажена работа по освобождению животных от патогенов, криоконсервирование половых продуктов и эмбрионов, хирургическая подго-

товка животных для хронических и острых экспериментов.

В непосредственной близости от питомника находится один из основных потребителей SPF-животных — лаборатория биологических испытаний Филиала ИБХ РАН. Возможность использования подобных животных позволяет проводить здесь доклиническую оценку лекарственных препаратов в соответствии с международным стандартом GMP (Good Manufacturing Practice) — ISO 9000, и, соответственно, получать заказы на такие испытания от зарубежных университетов и фармацевтических компаний.

А какова ситуация за Уралом? Если двигаться на восток от Пущино-на-Оке, то обнаружится, что следующий центр разведения SPF-животных находится ... в Японии. Все остальное пространство между этими географическими точками абсолютно свободно от животных, свободных от патогенов. И это удручает, потому что и в Сибирском,

Коридоры строящегося здания Центра пока напоминают катакомбы подземелий. Трубы вытяжных систем придают интерьеру фантастический вид

мышей. Последнее, несмотря на кажущуюся комичность — обязательное требование к содержанию животных в Англии и Скандинавских странах.

Международная кооперация

Стремительно увеличивающееся многообразие мышинных генотипов привело к созданию международной организации, призванной координировать работу национальных центров генетических ресурсов. Сегодня Федерация международ-

ных мышинных ресурсов (Federation of International Mouse Resources — FIMRe) объединяет 16 центров, расположенных в Северной Америке, Европе, Азии и Австралии. Центры формируют коллекции генотипов согласно договоренности, стараясь не дублировать друг друга. Эти коллекции пополняются благодаря собственной генетико-селекционной и генно-инженерной работе центров, однако основной вклад вносят научно-исследовательские лаборатории различной ведомственной принадлежности.

Отно-

Криоархивы экспериментальных животных-моделей не только являются страховкой на случай стихийных бедствий, но и способствуют поддержанию чистоты генетических линий

Михаил Мошкин и Юкио Накамура (Yukio Nakamura — заведующий Лабораторией клеточной инженерии, BRC Riken) в криобанке стволовых клеток (Япония)



ЦЕНТР генетических моделей на животных

Что может дать реализация проекта биомедицинским исследованиям в Сибири:

1. Отработка поставок полноценного стерильного корма и подстилочного материала.
2. Налаживание каналов получения и обмена генетическими линиями.
3. Обучение персонала.
4. Регулярный обмен опытом.
5. Создание условий для исследований по GMP-стандарту



Лаборатория ветеринарного и генетического контроля и Лаборатория пробоподготовки и первичной обработки материалов, взятых от экспериментальных животных



Сектор трансгенных животных

созидает методами генной инженерии экспериментальные модели животных с заданными генетическими свойствами



Криобанк и Лаборатория репродуктивных технологий

предназначены для создания архива генетических линий мышей и крыс на основе криоконсервирования половых клеток и эмбрионов; для перевода в SPF-стандарт уникальных линий животных, полученных в России; для разработки новых технологий криоконсервации



Сектор племенного разведения

предназначен для обеспечения поддержания и разведения племенных ядер разных линий мышей и крыс



Лаборатория «фенотипирования» и доклинических испытаний

Предназначена для прижизненных исследований поведения и морфофизиологических процессов у животных в пределах SPF-зоны



Сектор информационной поддержки

обеспечивает автоматизированный контроль всех видов работ с животными, а также связь с базами данных мировых центров биоресурсов лабораторных животных



Технический этаж Центра со сложной системой фильтров будет обеспечивать надлежащие условия для содержания животных

и Уральском, и Дальневосточном отделениях РАН (а также и РАН) активно ведутся работы с использованием лабораторных мышей и крыс. Если же добавить к ним институты других ведомств, а также классические и медицинские университеты, то окажется, что число потенциальных пользователей животных-моделей переваливает за сотню.

Сегодня все эти исследовательские учреждения обходятся тем ограниченным набором генотипов, которые могут им предоставить существующие виварии. Однако уже сейчас это серьезно тормозит фундаментальные исследования, а на работы прикладного характера накладывает гриф — «Только для внутреннего пользования», поскольку качество подопытных животных и условия их содержания не отвечают мировым стандартам.

Рассматривая скорбное текущее состояние дел и наши светлые перспективы, нельзя не отметить важную историческую роль академика В. К. Шумного, который 5 лет назад, будучи директором Института цитологии и генетики СО РАН и председателем Объединенного ученого совета по наукам о жизни, сумел добиться от российского правительства финансирования работ по строительству современного вивария с повышенными требованиями к содержанию животных.

Точно неизвестно, какие соображения лежали в основе решения о строительстве SPF-вивария, но то, что это было попадание в «яблочко» — несомненно. Причем, пользуясь артиллерийской терминологией, можно сказать, что «выстрел» накрыл не только цели

и задачи, очевидные в момент принятия решения, но и те, актуальность которых стала осознаваться лишь в самое последнее время. В ходе недавнего визита в Германию президент РФ Д. Медведев очередной раз подтвердил, что «Вступление во Всемирную торговую организацию — это тот рубеж, который Россия должна преодолеть». В контексте настоящей статьи это означает обязательное введение международных стандартов на все виды работ с экспериментальными животными, что не представляется возможным без создания адекватной экспериментальной базы.

Но все же главным стимулом к созданию современного центра живых генетических моделей служит внутреннее стремление ученых повысить надежность собственных научных результатов. Ведь возможность проводить исследования на тщательно стандартизированных экспериментальных объектах, содержащихся в строго контролируемой среде, в сочетании с неограниченным доступом к мировым «генетическим ресурсам» является залогом успешного развития современных биологических исследований.

Еще в большей мере это утверждение относится к междисциплинарным исследованиям, призванным решить фундаментальные проблемы функционирования живых организмов на разных уровнях организации. Решение этих проблем может дать ответы на животрепещущие вопросы о причинах болезней и старости, путях достижения успеха в разных формах конкурентной деятельности, биологических основах социальной привязанности

и отторжения и многих других — здесь найдется место и физике, и лирике. Создание современной инфраструктуры, помимо прочего, будет иметь немаловажное значение и для подготовки молодых ученых: возможность работать на уровне мировых стандартов (что подразумевает доступность экспериментальных объектов и необходимого инструментария) выступает для них в роли важнейшего стимула при выборе жизненных ориентиров.

И, наконец, еще одним стимулом к созданию современного генетического центра стала региональная программа развития фармакологической промышленности в Новосибирской области, в частности — создание фармакологического «кластера» с участием Сибирского центра фармакологии и биотехнологии (СЦФБ), институтов СО РАН и СО РАМН, а также венчурных компаний. Все это является существенной составляющей общего инновационного комплекса Новосибирского научного центра и НСО. Нужно отметить, что в области исследований, относящейся к созданию новых средств диагностики, профилактики и лечения болезней, пересекаются интересы не только медиков, биологов и химиков, но и физиков разного профиля, от ядерщиков до аэродинамиков.

Конечно, такое явление, как биомедицинская интеграция естественных наук — тема для специального разговора. Здесь же хотелось бы отметить, что любые работы в этом направлении замыкаются на стадию доклинических испытаний, объектами которых как раз и служат экспериментальные животные с заданными генетическими свойствами, качество которых, как и качество их содержания в виварии, должны отвечать строгим международным стандартам.

Многофункциональный и коллективный

Итак, что же мы имеем на сегодня? В соответствии с решением Правительства РФ в Новосибирском научном центре на базе ИЦиГ СО РАН строится современный виварий для мелких животных с повышенными требованиями к содержанию. Благодаря оригинальной архитектуре (главный инженер проекта — Б. В. Нестеров, ГИПРОНИИ СО РАН), строящееся здание привлекает всеобщее внимание.

Общая площадь вивария составляет около 5 тыс. м², из них почти 1000 м² составляют помещения, оборудованные по стандарту «чистых комнат» (класс С). Эту работу выполняет известный российский лидер в данной области — Миасский завод медицинского оборудования. На 2-м и 3-м этажах оборудуются два полно-

стью оснащенных автономных блока для содержания лабораторных животных, свободных от специфических патогенов. Еще четыре лабораторных помещения общей площадью около 140 м² расположены на первом этаже; остальное пространство занято различными технологическими и вспомогательными помещениями.

Подобная структура вивария предоставляет хорошие возможности для многоцелевого использования этого инфраструктурного объекта, и это единственное разумное решение при нынешнем положении дел. Так, в организации исследований на лабораторных животных в развитых странах хорошо просматривается исторически сложившееся разделение функций. В этом смысле показателен пример Японии, имеющей близкую к российской численность населения и высочайшую репутацию как в сфере высоких технологий в целом, так и в «здоровьесберегающих» технологиях в частности. Исследования на лабораторных животных проводятся во многих японских университетах и в коммерческих лабораториях. Все крупные университеты имеют в своем составе виварии, в которых животные содержатся в соответствии с SPF-стандартом, а также лаборатории, производящие трансгенных мышей. Помимо самостоятельного разведения животных университетские виварии также закупают наиболее ходовые линии мышей и крыс из специализированных питомников.

Для интеграции и сохранения стремительно растущего разнообразия лабораторных животных в Японии созданы специальные ресурсные центры. Например, Центр биоресурсов в Тсукубе (BRC Riken) специализируется на мышах и хранит в своем быстро пополняемом криоархиве около 3 тысяч генетических линий. Крысы находятся в ведении «Национального биоресурсного проекта для крыс» с головным учреждением — Институтом лабораторных животных Университета Киото. Сейчас под контролем этого проекта находится 458 линий крыс.

Следует подчеркнуть, что для эффективной работы подобных инфраструктурных комплексов, обеспечива-

Возможность проводить исследования на тщательно стандартизированных экспериментальных объектах, содержащихся в строго контролируемой среде, в сочетании с неограниченным доступом к мировым «генетическим ресурсам» является залогом успешного развития современных биологических исследований



М. П. Мошкин и И. И. Гейци на строительной площадке Центра. Примечательно, что Иосиф Иосифович участвовал в строительстве Института физики полупроводников СО РАН в 1963 г. И вот через 45 лет он снова задействован в масштабной стройке, проводимой в новосибирском Академгородке

ющих фундаментальные и прикладные исследования на лабораторных животных, необходимо наличие всех вышеперечисленных структурных компонентов, плюс ряд вспомогательных коммерческих организаций, поставляющих корм, подстилочный материал, дезсредства и другие жизненно-необходимые «мелочи». Мы же сегодня заканчиваем строительство нашего вивария практически посреди инфраструктурной «полупустыни». «Полу» — потому что у нас все же есть:

- виварии, расположенные по соседству, в которых однако отсутствуют условия для SPF-содержания животных;
- корма для животных, но стерилизация их гамма-облучением не отлажена;
- деревья, что не удивительно для Сибири, но при этом отсутствует стружка нужного качества для подстилочного материала.

К сожалению, список, чего у нас пока вообще нет, может занять гораздо больше места...

Однако несмотря на многие, как мы надеемся, временные недостатки, оснований для пессимизма у нас нет. Сама концепция создания мультифункционального комплекса адекватно воспринята руководством ИЦиГ СО РАН, академиками В. К. Шумным и Н. А. Колчановым и далее развивалась как результат коллективного творчества, найдя поддержку у научного сообщества СО РАН. Об этом свидетельствуют постановления Общего собрания ННЦ СО РАН (№ 1 от 15.11.07) и Президиума СО РАН (№ 26 от 24.01.08) об организации на базе строящегося SPF-вивария ИЦиГ СО РАН Центра коллективного пользования, обеспечивающего исследования в области генетики, молекулярной биоло-

гии, физиологии, биомедицины, нанобиобезопасности и фармакологии. Положительные оценки получены и при апробации проекта на заседании Президиума СО РАН (20.02.08).

Столько, сколько нужно!

В соответствии с концепцией мультифункционального комплекса вновь создаваемый Центр будет включать в себя:

- Криобанк и лабораторию репродуктивных технологий, предназначенные для создания архива генетических линий мышей и крыс на основе криоконсервирования половых клеток, эмбрионов на ранней стадии развития и эмбриональных стволовых клеток; перевода в SPF-стандарт уникальных линий животных, полученных в России; для обмена с криоархивами России и других стран, прежде всего, с генетическими центрами объединяемыми FIMRe; для разработки новых технологий криоконсервации на различных видах животных; для создания криоархивов уникальных пород сельскохозяйственных животных.
- Сектор племенного разведения, обеспечивающий поддержание и разведение племенных ядер разных линий мышей и крыс.
- Сектор трансгенных животных, предназначенный для создания методами генной инженерии новых линий животных с заданными генетическими свойствами.
- Лаборатории физиологического и этологического фенотипирования для прижизненных исследований поведения и морфофизиологических процессов у животных в пределах SPF-зоны.

Реализация этого плана позволит поднять на качественно новый уровень (в частности, на уровень международных GMP и GLP стандартов) весь комплекс исследований, проводимых на лабораторных животных в СО РАН и в целом в Сибири

- Лаборатории пробоподготовки для первичной обработки материалов, взятых от экспериментальных животных.
- Сектор информационной поддержки, обеспечивающий автоматизированный контроль всех видов работ с животными, а также связь с базами данных мировых центров биоресурсов лабораторных животных.

Реализация этого плана позволит поднять на качественно новый уровень (в частности, на уровень международных GMP и GLP стандартов) весь комплекс исследований, проводимых на лабораторных животных в СО РАН и в целом в Сибири. Мы сможем, наконец, отказаться от «сиротской идеологии», которая в этой области научно-организационной деятельности выражается у нас стандартным вопросом: «А сколько линий мышей будет содержаться в новом виварии?» Сегодня единственно правильный ответ на этот вопрос должен звучать так: «Да ровно столько, сколько нужно, и именно тех генотипов, которые требуются для решения конкретных задач, стоящих перед каждым из вас».

Создание Центра позволит существенно поднять материальную базу прижизненных морфо-функциональных исследований, ведь за последнее время техническое обеспечение этих работ значительно продвинулось благодаря таким методам, как fMRI-томография, тепловидение, телеметрия, прижизненное ИК-сканирование и многое другое. Эти подходы чрезвычайно важны для изучения изменений, протекающих в ходе онтогенеза и при различных экспериментальных воздействиях на организм, например, доклинических испытаниях новых средств профилактики и лечения болезней, оценке безопасности новых наноматериалов и т. д.

Конечно, скептики имеют право усомниться в реалистичности этих планов. Однако опыт успешно развивающихся стран, таких как Южная Корея, Китай, Индия и др., говорит о том, что в сферу новых технологий нужно входить либо стремительно, либо вообще даже не пробовать, а продолжать бурить скважины...

Оптимизм внушает и то обстоятельство, что помимо материальных ресурсов, выделенных на строительство здания нового Центра, мы имеем достойное интеллектуальное и профессиональное обеспечение его будущей деятельности. Пусть у нас еще нет криобанка, но есть С. Я. Амстиславский, который за неимением собствен-

ной лабораторной базы работает в Финляндии над проблемой расширения списка видов, пригодных для криоконсервации (в том числе и европейской норки, сохранение которой лежит в сфере национальной ответственности РФ). Большой опыт селекции экспериментальных животных с генетической предрасположенностью к некоторым болезням накоплен в ИЦиГ СО РАН

Судя по работам в области генной инженерии, выполняемым (часто совместно) в этом институте и в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, будущая генетическая коллекция нового Центра будет успешно пополняться собственными трансгенными животными, созданными под конкретные задачи сибирской науки. Эта работа будет осуществляться на основе межинститутской кооперации в области трансгенеза, причем в части работ на животных будет задействован SPF-виварий.

Сегодня в институтах СО РАН успешно используются самые современные методы исследования молекулярно-генетических, физиологических, морфологических и поведенческих процессов в живых организмах. Например, разработанные в Томографическом центре СО РАН подходы к прижизненному изучению тонких процессов, протекающих в живых организмах, уже применяются в совместных работах ИЦиГ и других биологических институтов СО РАН. А в Новосибирском институте органической химии СО РАН работает одна из наиболее успешных лабораторий фармакологических исследований, обеспечивающая связь химической науки с медицинской практикой (подробнее об этих работах читайте в одном из следующих номеров журнала).

Масштабные и разнообразные по тематике исследования живых организмов с помощью лучевых технологий биологи проводят совместно с физиками из Института ядерной физики и Института химической кинетики и горения СО РАН. Мы очень надеемся, что, наряду с решением фундаментальных задач, эти специалисты помогут разрешить и проблему практического применения технологий лучевой стерилизации, необходимых для выращивания SPF-животных.

От структуры — к функции

В одном из автобиографических воспоминаний нобелевский лауреат Д. Уотсон пишет, что он начинал научную карьеру как орнитолог, и с тех пор ему крайне хотелось узнать, каким образом в череде поколений обеспечивается устойчивое повторение сложнейших орнаментов, украшающих самцов многих видов птиц. Вместе с Ф. Криком он внес весомый вклад в решение этой проблемы, расшифровав структуру ДНК. Сегодня, после полной расшифровки геномов человека и многих



Развитие центров генетических ресурсов, которые в развитых странах входят в список национальных приоритетов, помимо решения фундаментальных задач обеспечивает одну из главных задач государства — сохранение здоровья нации

других видов организмов, мы имеем все теоретические и технологические предпосылки для следующего шага в нашем стремлении — понять, каким образом генетическая информация трансформируется в «истории жизни» отдельных особей.

У этой фундаментальной задачи, скорее всего, нет простого решения. Более вероятно, что оно будет формироваться как интегрированный результат огромного числа частных знаний о «траекториях», ведущих от гена к признаку, или от генов сетей — к фенотипу. И в этом «технологическом» цикле познания живых систем (от морфологического описания — к физиологическому объяснению) облигатным элементом являются исследования на животных с заданными генетическими свойствами. Ведь только на уровне целого организма можно окончательно проверить справедливость тех построений, которые складываются из анализа последовательностей нуклеотидов, изучения структур и функций биомолекул, детализации клеточного строения, математического моделирования генов сетей и т.д. Вспомним знаменитый фильм «Место встречи изменить нельзя»: пианиста можно оценить по фор-

ме рук или музыкальному слуху, но гораздо надежнее просто попросить его сыграть «Мурку»...

Необходимость в накоплении конкретных знаний диктуется не только невообразимой сложностью живых организмов, но и отсутствием «типовых конструкций» в рамках каждого биологического вида, включая человека. Поэтому в биомедицинские исследования, ориентированные на поиск методов лечения «больных, а не болезней», привлекается все больше число разнообразных живых генетических «моделей».

Одним из стимулов для создания подобных моделей служит стремительное накопление информации о генах, ассоциированных с той или иной патологией. В крайне редких случаях ученым удается реализовать полный цикл исследований, который включает в себя идентификацию генотипов, связанных с болезнью; получение соответствующих модельных животных; анализ механизмов генетически детерминированного патогенеза; поиск адекватных средств коррекции.

Следует отметить, что частоты генов, ассоциированных с болезнью, и сам характер этих ассоциаций имеют этнические особенности. И в этой связи создание условий для реализации всего вышперечисленного комплекса исследований входит в разряд национальных приоритетов, поскольку «спасение утопающих — дело рук самих утопающих». Этот тезис находит отражение в стремительно растущем числе подобных генетических центров, создаваемых во всех развитых странах. Расширение спектра модельных млекопитающих с заданными генетическими свойствами лежит в русле общих тен-

ден-
ций разви-
тия современной
биологии и меди-
цины.

Нужно заметить, что создание Центра, обеспечивающего доступ к мировым архивам лабораторных животных, имеет и далеко идущие последствия, поскольку создание современной инфраструктуры само по себе оказывает колоссальное влияние на воспитание конкурентоспособной молодежи. Это в равной степени относится к любым формам конкурентной деятельности: так, увлечение первого президента России теннисом обеспечило хорошие условия для тренировок молодежи, и сегодня наши теннисисты занимают ведущие позиции в мировом рейтинге.

В науке даже в большей степени, чем в спорте важно, чтобы талантливая молодежь работала у себя на родине. И удерживать ее должны не административные ограничения на выезд, а такие условия жизни и работы, которые не уступают европейским стандартам. Расположенный на территории новосибирского Академгородка новый Центр, несомненно, будет широко использован при подготовке высокопрофессиональных специалистов в разных областях биологии и биотехнологии, которая проводится в Новосибирском государственном университете и в академических институтах СО РАН и СО РАМН.

Итак, строящийся ныне SPF-виварий ИЦиГ СО РАН, счастливо получивший стартовый капитал от Правительства РФ, призван стать центром интеграции исследовательской активности ученых, для которой необходимы экспериментальные животные-модели. Он должен стать Центром коллективного пользования, в чем заинтересованы многие институты РАН и РАМН в разных регионах Урала, Сибири и Дальнего Востока, а также классические, медицинские и сельскохозяйственные университеты. Уже сегодня эта заинтересованность реализуется в виде весомой научно-методической и финансовой поддержки, которая оказывается в рамках программы СО РАН «Геномика, протеомика, биоинформатика», осуществляемой под руководством академиков Р.З. Сагдеева, В.Н. Власова, Н.А. Колчанова.



В развитых странах подобные центры входят в список национальных приоритетов, поэтому их можно рассматривать как один из символов государственности наряду с гимном, гербом и флагом. И такое положение вполне заслуженно, поскольку эти учреждения являются неотъемлемым элементом научно-технологического комплекса, призванного решить одну из главных задач государства: обеспечить здоровье нации через здоровье отдельных граждан.

Литература:

Abbott A., Harbor B. *Genetists prepare for deluge of mutant mice* // *Nature*. — 2004. — N. 432. — 541 p.

Collins F.S. et al. *The International knockout mouse consortium* // *Cell*. — 2007. — N. 128. — P. 9–13.

Davison M. *FIMRe: Federation of International Mouse Resources: global networking of resource centers* // *Mamm. Genome*. — 2006. — N. 17 (5). — 363 p.

Gachon F. et al. *The loss of circadian PAR bZip transcription factors results in epilepsy* // *Genes. & Dev.* — 2004. — N. 18. — P. 1397–1412.

Sprengel R., Hasa M.T. *Tetracycline-controlled genetic switches* // *HEP*. — 2007. — № 178. — P. 49–72.

Xiao-Wei Tan et al. *Fetal microchimerism in the maternal mouse brain: a novel population of fetal progenitor or stem cells able to cross blood-brain barrier?* // *Stem. Cells*. — 2005. — N. 23. — P. 1443–1452.



ЧТО ПЧЕЛЫ ЗНАЮТ ЦВЕТАХ

Зрительная и обонятельная картины мира пчел, как и их способность ориентироваться в пространстве, и большая часть их коммуникации построены вокруг их отношений с цветковыми растениями. Для пчел пыльца и нектар — это естественно возобновляемые виды сырья, которые являются важнейшими факторами, определяющими структуру и жизнедеятельность пчелиной семьи. Цветы в наличии бывают не всегда, да и их количество в пределах досягаемости не безгранично. Они представляют собой невосполнимый ресурс, за который пчелиные семьи конкурируют между собой и с другими насекомыми. Вследствие этого, у пчел выработался ряд поразительных способностей, дающих им возможность первыми добраться до цветов и собрать с них урожай. В этом выпуске журнала мы публикуем главу (в сокращении) из книги Ю. Таутца «Жужжание о пчелах. Биология суперорганизма», изданной в издательстве Spektrum-Springer весной 2007 г. На русском языке книга выйдет в издательстве «Инфолио» весной 2009 г.

Ю. ТАУТЦ

Сочетание анатомических, физиологических и поведенческих исследований указало на тесную связь между характерными признаками цветов и чувственным восприятием у пчел. Пчелы и цветы связаны между собой посредством двух модальностей чувственного восприятия — зрения и обоняния. Впрочем и для человека восприятие цветов определяется цветом и запахом.

Точечное восприятие мира

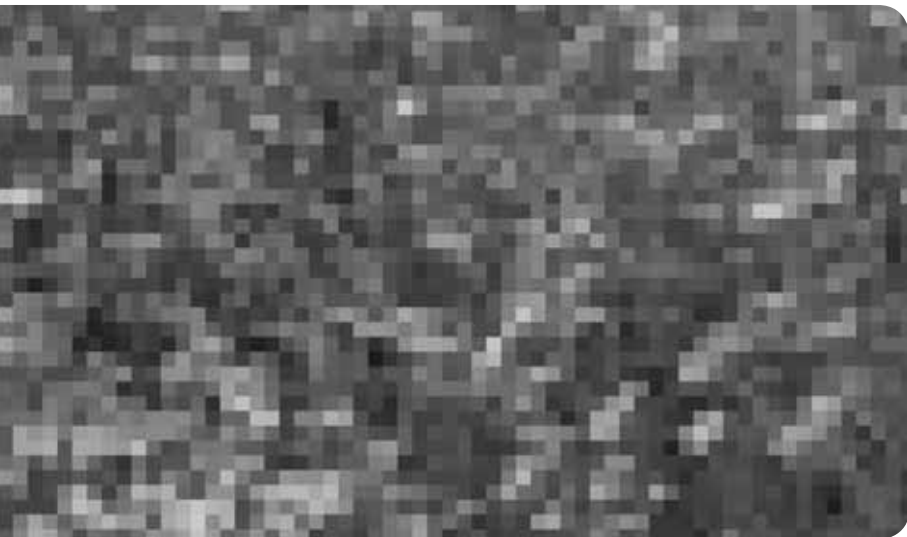
Зрение пчелы значительно отличается от человеческого. Их фасетчатые глаза состоят примерно из шести тысяч одиночных глазков. Для них картина внешнего мира складывается из множества довольно больших «точек». Свет, длина волны которого лежит в длинноволновой области видимого спектра — там, где для нас находится «красное» — лишь очень слабо возбуждает фоторецепторные клетки пчелы. Предмет, отражающий свет с длиной волны, которая не возбуждает зрительные рецепторы, видится как черный. Покрытое красными маками поле предстает перед глазами пчелы как поле, усе-

Значение, которое имеют частные детали сенсорных систем разных животных, нередко обретают смысл в связи с биологическим контекстом, в котором они реализуются. Пчелы используют коротковолновый диапазон для ориентирования в полете. Цветы же используют диапазон светочувствительности пчелы, размещая на лепестках участки, отражающие короткие волны и поэтому служащие как сигналы-аттрактанты, привлекающие пчел-опылителей

ТАУТЦ Юрген — доктор биологических наук, профессор Института физиологии и социобиологии поведения (Университет в Вюрцбурге, Германия), руководитель БИГрупп. Занимается фундаментальными исследованиями в области биологии пчел, результаты которых публикуются в престижных научных изданиях, ведет огромную работу по популяризации знаний о пчелах для широкой публики

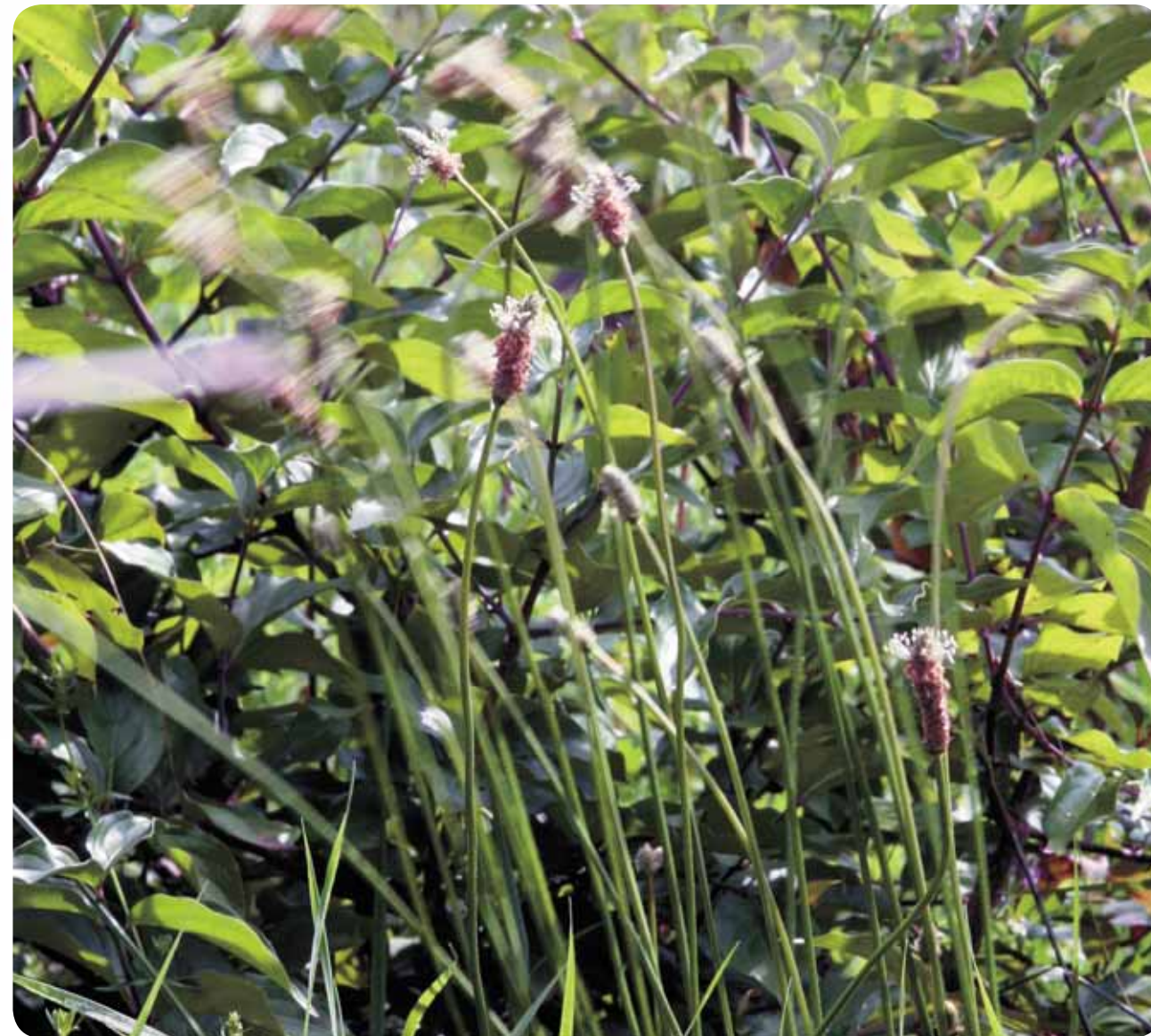


У многих цветков на лепестках есть участки, отражающие ультрафиолетовый свет. Таким образом, зрительные образы, которые видят пчелы (рис. вверху) невидимы для человека (рис. внизу)



У пчел два больших фасетчатых глаза и три маленьких простых глазка. Каждый фасетчатый глаз воспроизводит образ, состоящий из грубой матрицы точек разного цвета и интенсивности. Глаза трутней крупнее, чем у рабочих пчел и пчелиных маток. На фото — трутень, который только что вылупился из куколки

Быстро летящие пчелы не различают цветов. Цветовая информация в этот момент менее важна и не обрабатывается. Разноцветное цветочное поле (рис. вверху) видится смазанным, но все равно цветным для человека, проходящего мимо него (рис. центр). Напротив, пчела, летящая мимо того же поля с той же скоростью, будет воспринимать: картину, составленную из грубого сочетания точек разной интенсивности; резкий сфокусированный образ; образ только черно-белый (рис. внизу)



Мелкие цветы на тонких стеблях колышутся при малейшем дуновении ветра, привлекая зрительную систему пчел, нацеленную на движение, и потому не остаются незамеченными, несмотря на крохотный размер и бледные цвета

янное черными пятнами. Дефицит светочувствительности в красной области спектра у пчел компенсируется выигрышем в восприятии коротковолновой области видимого спектра: пчелы различают ультрафиолетовый свет, для нас, в отсутствие специальных технических приспособлений, невидимый.

Лепестки цветка многих растений имеют поверхности, особенно сильно отражающие ультрафиолетовый свет и, таким образом, представляющие перед глазами пчелы в виде невидимых нам узоров. Эти узоры могут служить пчелам-сборщицам посадочными сигналами,

Пчелы, как и многие другие насекомые, видят мир будто в замедленной съемке. Быстрые движения, которые мы воспринимаем расплывчатыми, пчелы в любой момент воспринимают совершенно четко. Например, резкие движения, совершаемые в испуге людьми, отгоняющими пчел и ос, служат им легко распознаваемыми ориентирами при атаке. Они часто жалят нас в области вокруг рта и это объясняется, в первую очередь, движениями наших губ при разговоре



Пчела-сборщица нашла источник пищи недалеко от улья и исполняет круговой танец. В нем содержится указание на то, что именно надо искать, и информация о том, что место это находится недалеко от улья

но могут также и упрощать для них зрительное распознавание различных видов растений.

Значение, которое имеют частные детали сенсорных систем у разных животных нередко обретают смысл в связи с биологическим контекстом, в котором они реализуются. Пчелы используют коротковолновый диапазон для ориентирования в полете. Цветы же используют диапазон светочувствительности пчелы, размещая на лепестках участки, отражающие короткие волны, и поэтому служат как сигналы-аттрактанты, привлекающие пчел-опылителей.

Вообще дела обстоят еще более сложно: цвета, которые видит пчела, по существу, определяются длинами волн, но также (хотя нам и сложно это представить) скоростью полета пчелы. Таким образом, даже сама поведенческая задача, стоящая перед пчелой, может влиять на ее цветовое восприятие.

Когда пчела перемещается в пространстве со скоростью 30 км/ч, ее цветовое зрение отключено, в этот момент она не способна различать цвета (Chittka, 2002; Spaethe et al., 2001). Цветы обретают окраску для пчелы только при приближении к ним и медленном облете.

С биологической точки зрения, этот феномен вполне понятен: при быстром полете окраска цветов для пчелы излишняя информация, в то время как ее небольшой мозг должен быть сосредоточен на более важных деталях полета — распознавании ориентиров на местности, препятствий и посадочных знаков.

Пчелы, как и многие другие насекомые, видят мир будто в замедленной съемке. Быстрые движения, которые мы воспринимаем расплывчатыми, пчелы в любой момент воспринимают совершенно четко. Например, резкие движения, совершаемые в испуге людьми, отгоняющими пчел и ос, служат им легко распознаваемыми ориентирами при атаке. Они часто жалят нас в области вокруг рта и это объясняется, в первую очередь, движениями наших губ при разговоре.

Цветы неподвижны, поэтому странно, что пчелы обладают высокой зрительной чувствительностью к движениям. Некоторые цветы используют это свойство в своих интересах. Разные виды растений ведут конкуренцию за пчел так же, как пчелиные семьи конкурируют за цветы. Более крупные и ярко окрашенные цветы привлекают больше посетителей, чем их кон-

куренты. Каким образом растения с более мелкими цветками могут привлечь пчел? Мелкие цветы часто расположены на тонкой и гибкой цветоножке — даже слабое дуновение ветерка шевелит их, привлекая внимание пчел.

Танцующие пчелы

Исключительно сложная коммуникация, имеющая место между «владеющими информацией» пчелами и пчелами «малосведущими» до сих пор недостаточно осмысленна. Она представляет собой последовательность форм поведения, исполняемых пчелами в улье и на местности. Так называемый «язык танца», открытый Карлом фон Фришем и сейчас стал одной из наиболее изучаемых форм коммуникативного поведения животных — лишь одно из звеньев этой цепи.

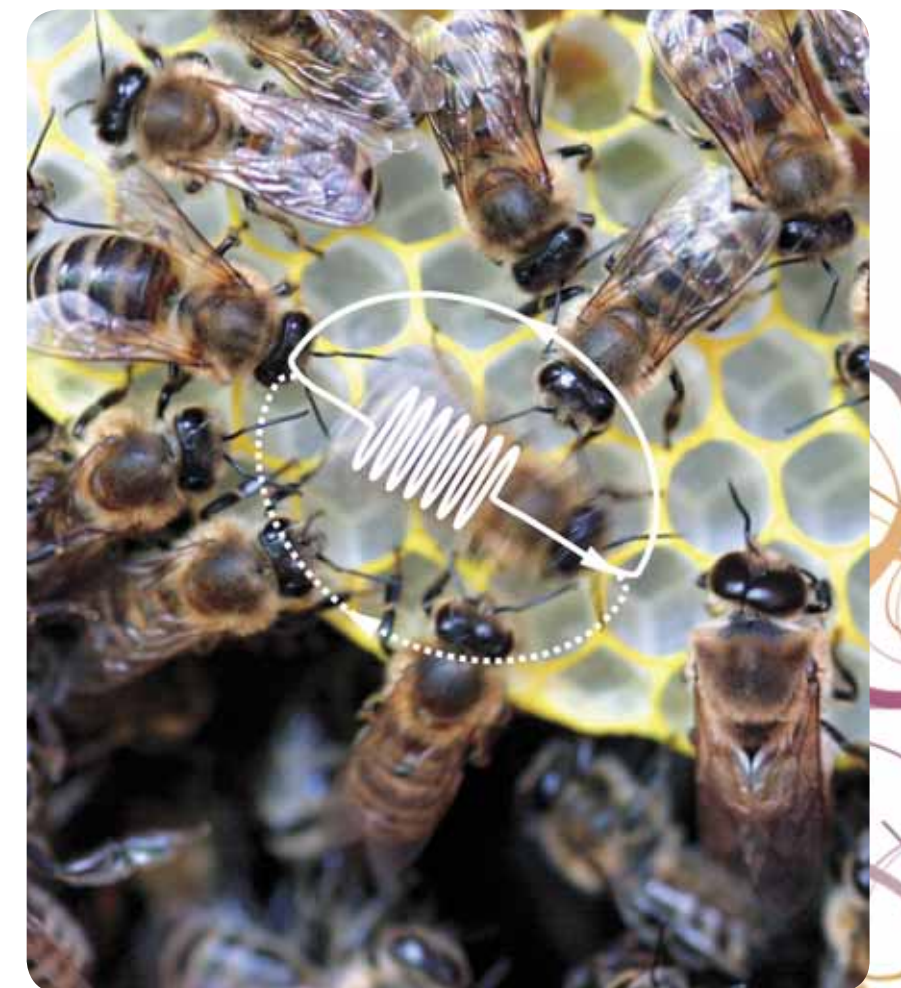
Например, пчела, нашедшая цветущее вишневое дерево, возвращается в улей с некоторым количеством нектара. Она передает нектар пчеле-хранительнице и снова покидает улей, чтобы вернуться к той же вишне. Так повторяется несколько раз, причем каждый последующий полет занимает все меньше времени, вероятно в связи с тем, что маршрут полета становится с каждым разом все более прямым. Как только са-

Пчела-сборщица нашла далекий источник пищи и исполняет виляющий танец. Пчела трясет телом из стороны в сторону, с частотой 15 раз в секунду. Затем она делает круг, возвращаясь в точку, где начала «виляние», повторяет виляющую фазу и снова делает круг, но теперь уже в обратном направлении. Полный раунд танца длится всего лишь несколько секунд, но этого вполне достаточно, чтобы рассказать о местоположении источника пищи

Для того чтобы разобраться в сложном поведении пчел при поиске ими цветов и сборе урожая, полезно разбить их действия, связанные с полетами к цветам, на несколько функциональных шагов.

Чтобы использовать природное богатство цветковых растений, пчелы-сборщицы, практически должны уметь выполнять следующие операции:

- распознавать цветы как таковые;
- различать разные виды цветов;
- оценивать состояние цветка;
- уметь обработать цветок с помощью ножек и ротового аппарата;
- определять расположение цветка на местности;
- определять часы в течение суток, когда различные цветы производят больше нектара;
- делиться информацией с членами семьи, выступая в качестве курьера в системе коммуникации;
- уметь самой принять и понять передаваемую в такой коммуникационной системе информацию о том, где найти цветы



мый короткий маршрут будет проложен, на что обычно требуется до десяти полетов, пчела начинает свой танец.

Как выяснил Карл фон Фриш, когда источник пищи находится в радиусе не более 50–70 м, пчела исполняет круговой танец. В этом танце содержится лишь некоторое количество информации о хорошем источнике. Он дает лишь указание на то, что именно надо искать, и информацию о том, что место это находится недалеко от улья. От пчелы, прилетевшей после посещения вишневого дерева, пахнет вишнями, и такую вишню будет несложно найти за несколько облетов вокруг улья.

Если источник пищи расположен на большем расстоянии от улья, то подсказка, указывающая на его местоположение была бы не лишней и позволила бы обойтись без долгих разведывательных полетов. Пчела, стремящаяся привлечь на помощь других, передает эту информацию в виляющем танце. Детали передвижений пчелы в этом танце, как обнаружилось, указывают на местоположение источника пищи относительно улья.



Поразительная последовательность движений виляющего танца исполняется с такой интенсивной регулярностью, что привлек немало внимания со стороны исследователей. Современные методы, такие как съемка крупным планом и съемка высокоскоростной камерой, позволили зафиксировать поразительные детали. Виляющий танец получил название по характерному движению в ходе танца, когда пчела, сидящая на сотах, трясет телом из стороны в сторону, с частотой 15 раз в секунду. Затем она делает круг, возвращаясь в точку, где начала «виляние», повторяет виляющую фазу и опять делает круг, но в этот раз в обратном направлении: таким образом, две половины танца, вместе взятые, образуют траекторию, похожую на лежащую на боку восьмерку.

Полный раунд танца длится лишь несколько секунд и исполняется на участке диаметром 2–4 см. Детали мелких и быстрых движений впервые обнаружены при замедленном воспроизведении высокоскоростной киносъемки. Стало ясно, что первоначальное впечатление, что пчела бежит по сотам в виляющей фазе танца — это оптическая иллюзия, вызванная тем, что пчела вытягивается вперед во время быстрых движений телом из стороны в сторону. На самом деле, пчелы, скорее, исполняют «виляющую стойку»,

Коммуникация посредством танца требует, чтобы лапки пчелы-танцовщицы оставались крепко сцепленными с сотами. Таким образом, пчела исполняет, скорее, «виляющую стойку», чем «виляющий танец». Ее шесть лапок (отмечены белыми точками) сохраняют контакт с краями ячейки, тогда как виляющее тело вытягивается вперед относительно находящихся в неподвижности лапок (показано стрелкой)



Только те партнерши по танцу, чьи движения полностью соответствуют и подстроены под движения пчелы-танцовщицы, и которые следуют за ней несколько раундов танца, получают информацию о местонахождении источника пищи

чем «виляющий бег», и в этой позиции она остается стоять на сотах всеми шестью лапками настолько долго, насколько это ей под силу, при этом вытягиваясь вперед. Некоторые пчелы на момент отрываются от поверхности сот в поиске более устойчивой стойки и, вытягиваясь вперед, бывают вынуждены передвинуть одну из лапок, но не более чем на пару шагов (Tautz et al., 1996).

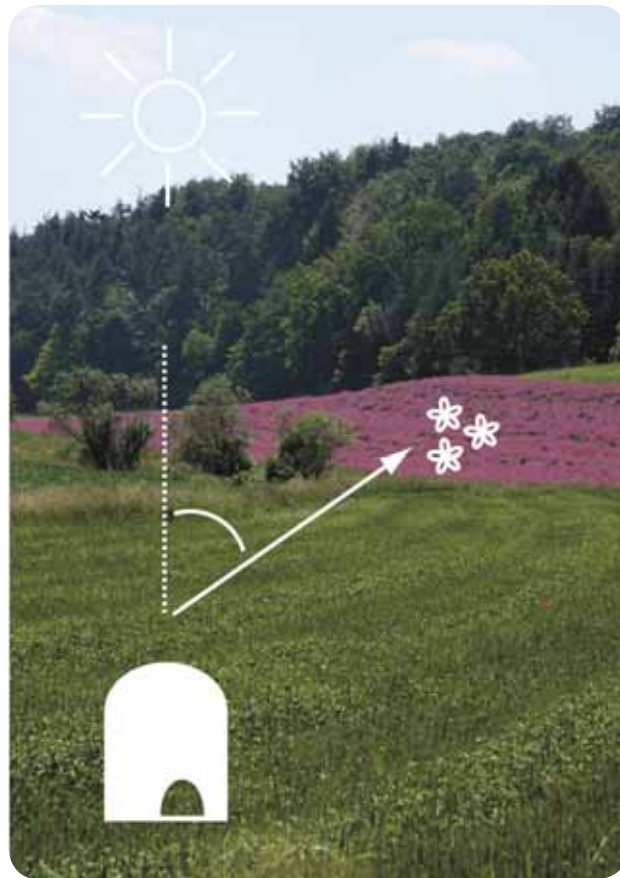
Танцы пчел происходят практически всегда на небольшом участке рядом с летком. На этом «танцполе», явно химически помеченном пчелами, пчелы-танцовщицы встречаются с пчелами-сборщицами, которым интересны их сообщения. Если этот участок сот вырезать и переместить в другое место улья, пчелы будут его искать, пока не найдут на новом месте, прежде чем снова исполнить свой танец (Tautz, 1997).

Пчела-танцовщица и ее последователи, до десяти из которых тесно сбиваются вокруг нее, исполняют балет, в котором движения участников строгим образом скоординированы.

Движения как пчелы-танцовщицы, так и ее партнерш, строго срежиссированы. Последовательные перемещения ножек и повороты туловища следуют единому

рисунку. Сложный рисунок движений партнерш, куда менее явный, чем у пчелы-танцовщицы, обнаруживается только при замедленном воспроизведении видеосъемки. Проанализировав ее видно, что только те партнерши, которые точно исполняют всю детальную последовательность движений, попадают «в такт» в ходе нескольких последовательных раундов.

Отдельные элементы виляющего танца содержат информацию о расстоянии между ульем и источником пищи, о направлении и других деталях. Направление всегда задается в отношении к некоторой контрольной точке. Положение солнца или угол поляризации небосклона задают такую точку снаружи улья. Однако танец происходит на поверхности вертикально висящих сот внутри темного улья. Здесь единственной контрольной точкой является направленная вниз сила притяжения. Вне улья в полете пчелы видят положение солнца и переводят угол, заданный им в виляющем танце относительно силы гравитации, в соответствующий угол между солнцем и ульем, таким образом определяя направление к источнику пищи.



Пчелы находят путь к источнику пищи по солнечному компасу. Вектор над ульем указывает на расположение источника пищи относительно положения Солнца

Скорость полета «на глазок»

Вильяющий танец содержит информацию о расстоянии от улья до источника пищи. Чем длительнее вильяющая фаза танца, тем дальше находится источник. Однако, в отличие от информации о направлении, передача информации о расстоянии в танце связана с рядом проблем. В частности, длительность вильяющей фазы растет пропорционально увеличению расстояния только до нескольких сотен метров. Затем она увеличивается понемногу, однако информация о расстоянии до более дальних целей всегда менее точна. Еще одна сложность заключается в том, что пчелы используют *визуальный одометр* (счетчик пройденного расстояния), чтобы определить расстояние полета, указанное им в танце. Данные, получаемые от этого счетчика, соотносятся со структурными особенностями местности, по которой летит пчела.

При полете по структурированной местности изображения объектов движутся от фасетки к фасетке по

поверхности сложного глаза пчелы. Результатом этого является возникающее в зрительном поле пчелы «оптическое течение», позволяющее ей определить скорость полета (Srinivasan et al., 2000; Esch et al., 2001; Tautz et al., 2004). Эта способность есть и у нас, например, когда мы наблюдаем проплывающие за окном пейзажи. Однако на основании «оптического потока» пчелы способны определять пройденное ими расстояние — свойство, нам слабо подвластное, если вообще данное.

Некоторые простые эксперименты с пчелиным одометром дали понимание ряда особенностей восприятия пчелы. Пчелы, летящие к источнику пищи по узкому туннелю с узорчатыми стенами, ощущают искусственное увеличение оптического течения на коротком расстоянии, которое они пролетели. Это обманывает пчел, которые переводят искусственно увеличенное оптическое течение в более дальнее расстояние, что соответствующим образом отражается в удлиненной вильяющей фазе танца. Такой несложный «обман» в отношении оцениваемого пчелой расстояния открывает окошко в мир субъективного восприятия пчелы, в котором длительность вильяющей фазы — отражение субъективного ощущения пчелой дальности дистанции полета.

Использование «обманного туннеля» позволило подтвердить некоторые старые идеи, опровергнуть иные, прояснить спорные вопросы, а также дало понимание некоторых новых моментов:

- опровергнуто мнение, что пчелы используют расход энергии как меру расстояния полета;
- подтверждено использование визуального одометра и предположение, что определение расстояния происходит в полете до источника пищи, а не в обратном полете;
- разрешен длящийся десятилетиями спор о том, используют ли пчелы информацию, полученную в вильяющем танце. «Обманный туннель» позволил получить «неправильных пчел», которые собирали корм на расстоянии 6 м от улья, но в танце передававших информацию о расстоянии в 30 раз большем. Именно на таком расстоянии от улья затем можно было обнаружить пчел-рекрутов в поиске источника пищи, которого там не было. Разумеется, те использовали информацию, полученную в танце;
- с помощью разноцветного узорчатого туннеля получен новый вывод о том, что из трех цветовосприимчивых клеток-фоторецепторов в фасетчатом глазе пчелы, каждая из которых лучше реагирует на ультрафиолетовый, синий или зеленый цвет, соответственно, только зеленый фоторецептор используется для измерения расстояния.

Простая манипуляция танцем пчелы с помощью туннельных полетов показала, что расстояния, «показывае-

Вид из улья редко бывает одинаковым во всех направлениях. Различные детали ландшафта, над которыми летит пчела, вызывают у нее оптические потоки разной интенсивности, что ведет к различиям в длительности вильяющего танца при одинаковых расстояниях, пролетаемых на местности

мые» пчеле визуальным одометром, зависят от структуры местности по направлению полета. При проверке этой идеи оказалось, что полет через ландшафт с ровным рельефом приводил к танцу с короткой вильяющей фазой, а полет на то же расстояние через сложный структурированный ландшафт — к танцу с длинной фазой. У пчел, летящих к источникам корма, которые находятся на одинаковом расстоянии, но в разных направлениях от улья, вильяющие фазы танца и, соответственно, показатели расстояния, могут различаться в два раза. Вильяющая фаза в 500 мс может, например, при полете на юг означать расстояние в 250 м, а при полете на запад от того же улья — 500 м.

Из этого мы можем сделать два вывода:

- одометр пчелы не дает информации об абсолютном расстоянии и может быть полезен только тем рекрутам, которые покидают улей в том же направлении (и на той же высоте), что и танцующая пчела;
- следует пересмотреть представление о том, что перевод расстояния полета одинакового расстояния у пчел разных рас будет транслироваться в различную продолжительность вильяющей фазы, поскольку «язык танца» у них имеет различные «диалекты».

Продолжительность вильяющей фазы лишь слегка отличается у пчел разных рас при полете по одному и тому же маршруту. Сравнение танца пчел одной и той же расы на одно и то же расстояние, но над различными ландшафтами, пока-



Что же пчелам следует знать о цветах, и откуда они берут эти знания?

В принципе, есть три пути получения знаний:

- информация бывает унаследованной, сокрытой в геноме в виде инстинктов;
- информация бывает приобретенной на опыте (обучение);
- информация бывает переданной другими, более опытными представителями вида (коммуникация)

зывает, что отличия, связанные с рельефом ландшафта значимо больше, чем вариация между расами. Таким образом, при оценке кодирования дальности полета в пчелином танце у различных рас и в разных местностях, исследователь, скорее, сравнивает визуальные свойства ландшафта, а не свойства пчелиных рас.

фазы, в которой содержится информация о расстоянии, привлекательности источника пищи, не влияет.

Однако что же считается привлекательным источником пищи?

У пчел множество различных впечатлений интегрируется в общую картину. Сюда входят не только качество пищи, но и детали полета к ее источнику: высокая концентрация сахара в нектаре усиливает оживленность танца, сложности на пути, такие как сильный ветер, явные угрозы со стороны врагов или узкие

подходы к источнику снижают ее. Более оживленные танцы привлекают большее количество рекрутов, чем менее оживленные, что и привлекает большинство рекрутов к конкретным источникам пищи.

Как же рекруты понимают сообщение танцовщицы? Об этом дает представление ультрамедленное воспроизведение скоростной виде-

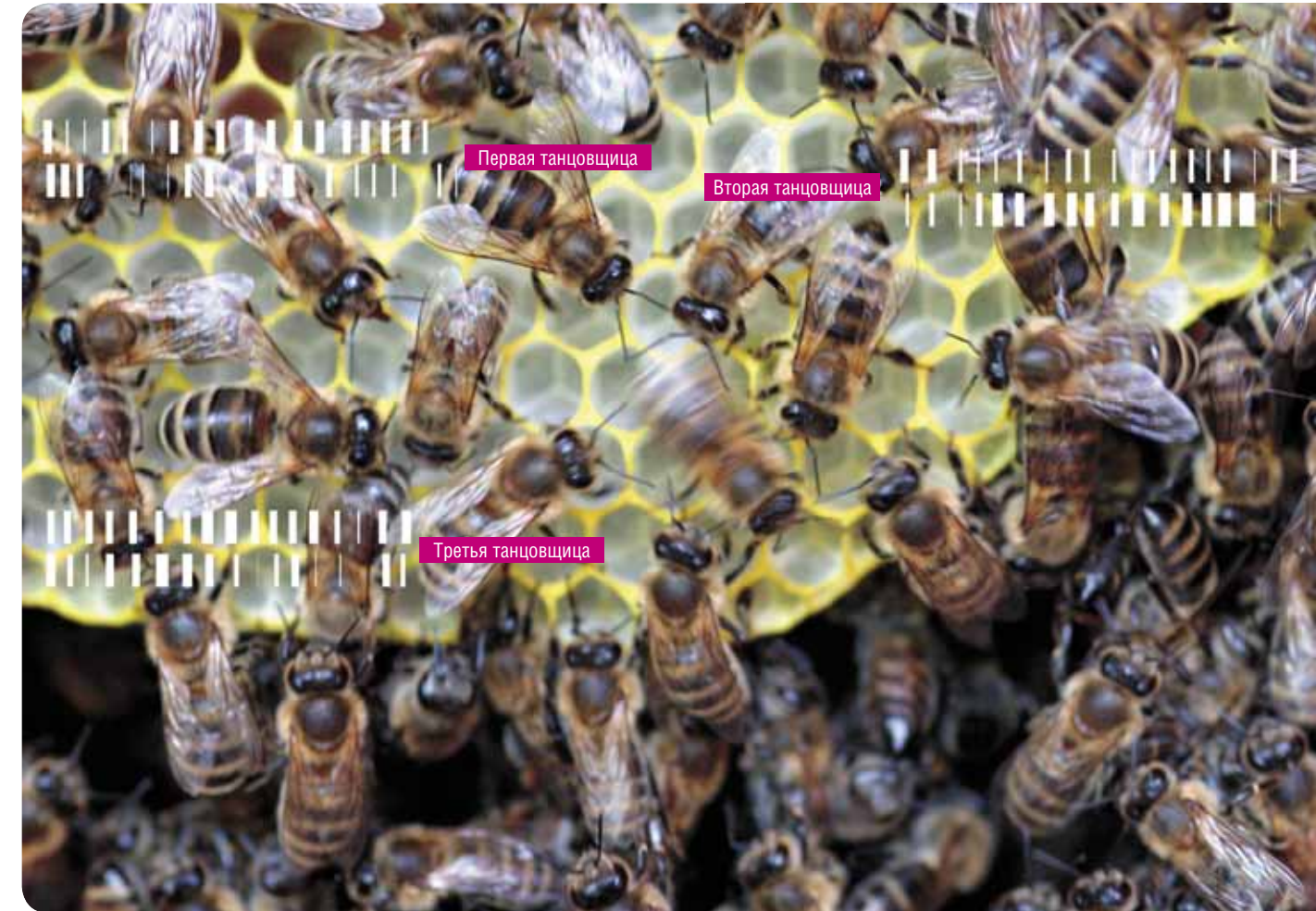
Танцы пчел происходят практически всегда на небольшом участке рядом с летком. На этом «танцполе», явно химически помеченном пчелами, пчелы-танцовщицы встречаются с пчелами-сборщицами, которым интересны их сообщения. Если этот участок сот вырезать и переместить в другое место улья, пчелы будут искать его, пока не найдут на новом месте, прежде чем снова исполнить свой танец (Tautz, 1997)



Целевая вербовка новичков

Помимо информации о его расположении, пчела-танцовщица передает и другие важные детали об источнике пищи и маршруте полета. Более привлекательные источники отображаются в более оживленных танцах, в которых пчела-танцовщица завершает фазу возврата к исходной точке виляющей фазы очень быстро, в то время как менее оживленный танец характеризуется более медленным возвратом. На длительность виляющей

Пчелы-сборщицы, обученные летать через узкие туннели с узорчатыми стенками, по пути к источнику пищи наблюдают быструю смену образов, как если бы они летели вдоль стены. Получающееся в результате высокое оптическое течение порождает виляющий танец, в котором неверно представлено истинное расстояние



осъемки. Рекруты используют свои антенны для оценки амплитуды движений, кодирующих направление и расстояние в повторяющейся последовательности движений танца. Во время танца правильно расположенные рекруты стоят неподвижно, а их антенны вытянуты жестко вперед под углом в 90–120° друг к другу. При этом они

В темноте улья, партнерши по танцу используют антенны, как незрячие люди — трости, чтобы уловить движения танцовщицы. Ритмические колебания тела танцующей пчелы отбивают виляющий ритм на жестко выставленных вперед антеннах партнерш. Уникальный характер контакта между телом танцовщицы и двумя антеннами партнерши характеризует каждую позицию партнерши относительно танцовщицы. Таким образом, в танце закодирована информация о продолжительности виляющей фазы (расстояние до источника пищи), и положение танцовщицы относительно силы гравитации (направление к источнику пищи)

находятся так близко от танцовщицы, что движения ее брюшка из стороны в сторону ритмично отклоняют их. Во время виляющей фазы обе антенны отклоняются одновременно, если она находится под прямым углом к танцовщице и поочередно, если рекрут находится сзади (Rohrseitz, 1999).

Еще не все вопросы этих интерактивных танцев решены. Как находят друг друга рекруты и танцовщицы в темноте и тесноте танцевальной площадки? Их направляют друг к другу вибрации ячеек. Такие вибрации лучше всего передаются по утолщенным краям ячеек. Их верхний край состоит из валиков, таким образом создается сеть шестиугольных ячеек (Sandeman et al., 1996; Tautz, 1996, 1998, 1999), передающих вибрации исходящие от танцовщицы (Nieh, 2000; Tautz et al., 2001).

Генератор этих вибраций — грудная летная мускулатура, наиболее мощная из мускулов пчелы. Пчела использует их на полную мощность, но крылья ее при этом не связаны и лишь слегка движутся. Летный мотор сокращается и расслабляется не постоянно, а пульсами, которые в большинстве случаев синхронны с максимальными отклонениями брюшка вправо—влево в виляющей фазе. Базовая частота этих вибраций находится между 230 и 270 колебаниями в секунду.

Порой можно наблюдать «немые» танцы, для человека ничем не отличимые от обычных, хотя вибрации летного мотора в них отсутствуют, и такие танцы не привлекают рекрутов, несмотря на то что танцовщица заметно старается. Поразительные виляющие движения, скорее всего, используются как механическая стратегия для передачи вибраций стенкам ячеек через лапки. Легкая танцовщица, стоящая или даже бегающая по краям сот, не смогла бы передать через свои тонкие лапки достаточно энергии ячейкам. Однако во время виляющего движения она цепляется лапками за края ячеек, попеременно раскачивая их вправо и влево. Именно в этот момент, когда края ячейки находятся под максимальным напряжением, пчела передает вибрации сотам.

Многие элементы коммуникации, используемые в образовании мини-роев рекрутов, привлекаемых к источникам пищи, наблюдаются также и при образовании «настоящих» роев. Мини-роевание рекрутов не находится под тем же давлением отбора, что и настоящее роение, поскольку здесь не ставится на карту вся судьба колонии. Истинно роящаяся колония должна быть немедленно направлена к новому дому, или она погибнет. По-видимому, поведение, используемое для привлечения рекрутов к источникам пищи развилось на основе «истинно роящегося» поведения (Tautz, 2002, 2004).

Вербовка новичков к новым источникам корма — это исключительно сложное поведение, при котором пчелы

внутри улья и снаружи вступают в коммуникацию. Цветы предоставляют вспомогательные средства, такие как запахи, впитывающиеся в тело танцующей пчелы, которые, вдобавок к тем, которые приносятся ветром, служат обонятельными сигналами. Если естественных ресурсов достаточно, пчелиная семья будет нормально развиваться даже при условии полного дезориентирования танцев, например в перевернутом улье когда, таким образом, мы устраним силу гравитации в качестве контрольной точки, а следовательно, и способность танцующих пчел передавать информацию о направлении. Колония, находящаяся в окружении достаточного количества равномерно пространственно распределенных ресурсов, не пострадает от такого вмешательства и сможет найти достаточно цветов для удовлетворения своих нужд, находя их с помощью запахов или просто наудачу. Коммуникация посредством танца становится критически важной, когда ресурсы пространственно ограничены и скудны — именно тогда целевая вербовка может существенно увеличить сбор.

Литература

Chittka L., Tautz J. *The spectral input to the honeybee visual odometry* // *J. of Experimental Biology*. — 2002. — N. 206. — P. 2393–2397.

Esch H., Zhang S., Srinivasan M., Tautz J. *Honeybee dances communicate distance by optic flow* // *Nature*. — 2001. — N. 411. — P. 581–583.

Nieh J. C., Tautz J. *Behaviour-locked signal analysis reveals weak 200–300 Hz comb vibrations during the honeybee waggle dance* // *J. of Experimental Biology*. — 2000. — N. 203. — P. 1573–1579.

Rohrseitz K., Tautz J. *Honey bee dance communication: waggle run direction coded in antennal contacts?* // *J. of Comparat. Physiology*. — 1999. — T. A, N. 184. — P. 463–470.

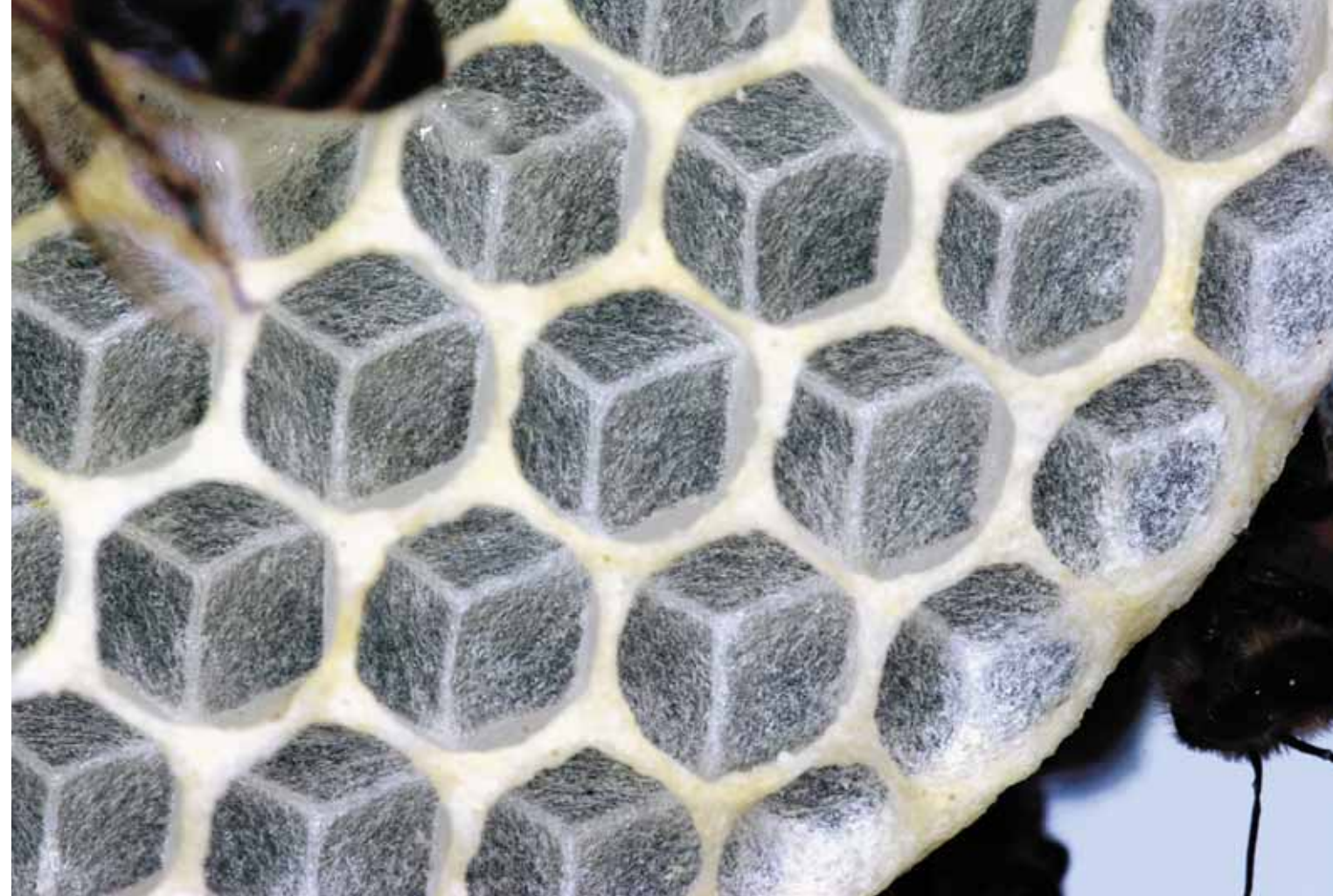
Sandeman D. C., Tautz J., Lindauer M. *Transmission of vibration across honeycombs and its detection by bee leg receptors* // *J. of Experimental Biology*. — 1996. — N. 199. — P. 2585–2594.

Sen Sarma M., Esch H., Tautz J. *A comparison of the dance language in Apis mellifera carnica and Apis florea reveals striking similarities* // *J. of Comparat. Physiology*. — 2003. — T. A, N. 190. — P. 49–53.

Spaethe J., Tautz J., Chittka L. *Visual constraints in foraging bumble bees: flower size and color affect search time and flight behaviour* // *Proceedings of the Nation. Acad. of Sci. USA*. — 2001. — N. 98. — P. 3898–3903.

Srinivasan M. V., Zhang S. W., Altwain M., Tautz J. *Honeybee navigation: nature and calibration of the «odometer»* // *Science*. — 2001. — N. 287. — P. 851–853.

Tautz J. *Honeybee waggle dance: recruitment success depends on the dance floor* // *J. of Experimental Biology*. — 1996. — N. 199. — P. 1375–1381.



Тонкие стенки восковой ячейки сот заканчиваются по своим верхним краям утолщенным валиком. Вместе они формируют непрерывную ячеистую сеть, которая лежит на поверхности стенок ячеек. Благодаря вибрации ячеек танцовщицы и рекрутеры в темноте и тесноте улья находят друг друга

Tautz J. *A comb-wide web* // *Science*. — 1999. — N. 286. — P. 2272–2273.

Tautz J., Bujok B. *Bee dance*. *Encyclop. of Language and Linguistics*. — Elsevier, 2004.

Tautz J., Lindauer M. *Honeybees establish specific sites on the comb for their waggle dances* // *J. of Comparat. Physiology*. — 1997. — T. A, N. 180. — P. 537–539.

Tautz J., Rohrseitz K. *What attracts honeybees to a waggle dancer?* // *J. of Comparat. Physiology*. — 1998. — T. A, N. 183. — P. 661–667.

Tautz J., Sandeman D. C. *Recruitment of honeybees to non-scented food sources* // *J. of Comparat. Physiology*. — 2002. — T. A, N. 189. — P. 293–300.

Tautz J., Casas J., Sandeman D. C. *Phase reversal of vibratory signals in honeycomb may assist dancing honeybees to attract their audience* // *J. of Experimental Biology*. — 2001. — N. 204. — P. 3737–3746.

Tautz J., Rohrseitz K., Sandeman D. C. *One-strided waggle dance in bees* // *Nature*. — 1996. — N. 382. — P. 32 p.

Tautz J., Zhang S., Spaethe J. et al. *Honeybee odometry: performance in varying natural terrain* // *PLOS*. — 2004. — N. 2. — P. 0915–0923.

Благодарности:

Аспекты биологии медоносных пчел, отраженные в этой статье, во многом основываются на результатах исследований и наблюдениях студентов и приглашенных исследователей, работавших в составе исследовательской группы по поведению пчел. Я хочу выразить им свою глубокую благодарность. Иллюстрации взяты из книги «Феномен медоносной пчелы» (Автор: Ю. Тауц; иллюстрации: Хельга Р. Хейльманн. Издательство: Spektrum, 2007), за что я хочу также поблагодарить издательство Spektrum-Springer.

В публикации использованы фото Хельги Р. Хейльманн



ЯЗЫК



МУРАВЬЕВ

ДО ОТКРЫТИЯ ДОВЕДЕТ

РЕЗНИКОВА Жанна Ильинична — доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой сравнительной психологии Новосибирского государственного университета, заведующая тематической группой этологических основ интеграции сообществ животных Института систематики и экологии животных СО РАН (Новосибирск).
Специалист в области экспериментальной этологии и экологии, член международного консюлата общества по изучению поведения животных.
Автор более 200 научных публикаций, нескольких учебников и монографий





Муравейник рыжих лесных муравьев рода *Formica* — активных хищников, защищающих лес от насекомых-вредителей. Окрестности Новосибирского научного центра. Фото Т. Новгородовой

На планете насчитывается около 11 тысяч видов муравьев. Большинство из них решает свои жизненные задачи, не прибегая к таким сложным способам общения, как символический язык. Они используют пахучий след, феромоны тревоги, даже перекидывают с дерева на дерево живые дорожки, сплетенные из собственных тел. Только немногочисленные «муравьиные приматы», к которым принадлежат обычные для нас рыжие лесные муравьи, могут передавать друг другу содержательные сообщения и способны изменять способы коммуникации в зависимости от решаемой задачи. Возможно, это одна из причин значительного биологического прогресса этих видов, который выражается в обширных ареалах, захватывающих несколько природных зон, численности семей — до нескольких миллионов особей, сотнях гектаров контролируемой территории

На обложке новой книги автора, опубликованной в издательстве Cambridge University Press, группа муравьев уверенно движется к цели по лабиринту «бинарное дерево». По условиям эксперимента, муравьи лишены возможности использовать пахучий след или какие-либо другие способы ориентации, помогающие найти кормушку. Все, чем они располагают, это информация, полученная ими от разведчика, вернувшегося из удачного похода. Однако разведчика в лабиринт не пускают, группа должна найти цель самостоятельно. Это иллюстрация эксперимента, позволившего описать символический «язык» муравьев, превосходящий по сложности известный «язык танцев» пчел

Рыжие лесные муравьи стали первыми испытуемыми нового метода изучения языкового поведения животных, предложенного известным специалистом по теории информации и криптографии профессором Б. Я. Рябко и разработанного в Институте систематики и экологии животных СО РАН (Рябко, Резникова, 1986; Ryabko, 1993; Ryabko,

Reznikova, 1996). Этот метод теперь называется теоретико-информационным, в отличие от двух других ранее известных в этологии методов исследования коммуникации животных.

Первый из этих методов основан на попытках расшифровки сигналов. Пытаясь решить одну из самых волнующих проблем этологии — понять, каким образом животные общаются между собой и насколько сложную информацию они могут передать друг другу — исследователи пытались расшифровать «языки» разных видов. Однако в природе очень редки ситуации, когда достаточно выразительные сигналы соответствуют часто повторяющимся и легко наблюдаемым ситуациям. В отсутствие таких ситуаций, которые могли бы служить «ключами» к неизвестному для нас «языку», расшифровка сигналов животных является громоздкой и чаще всего практически неосуществима. Блестательным, но практически единственным успехом в этой области, является пример расшифровки символического языка танцев пчел, осуществленный Карлом фон Фришем. Его исследования, начатые еще в 20-е гг. XX в., за кото-

У одних видов рабочие муравьи различаются размерами головы, а у других — скорее размерами «ума»



Рабочие муравьи рода *Pheidole* выполняют в семье функции солдата (справа) и фуражира (слева). Фото © Alex Wild



Зеленые древесные муравьи (*Oecophylla smaragdina*), обитающие в тропических лесах Азии, Африки и Австралии, «мостят» дорожки с дерева на дерево, цепляясь за тела друг друга. Фото © Alex Wild

Рыжие лесные муравьи обладают не только сложной коммуникацией, но и профессиональной специализацией в семье, основанной на различиях в поведении (Резникова, Новгородова, 1998). На фото: сборщик пади передает транспортировщику сладкие капли, «надоенные» у тлей, а охранник находится рядом, готовый отразить любое нападение. Фото Т. Новгородовой

рые он в 1973 г. получил Нобелевскую премию, успешно продолжают его ученики, в том числе, Ю. Таутц (см. статью в этом номере журнала).

Настоящую революцию в постижении «лингвистического» потенциала животных осуществили в конце 60-х гг. прошлого столетия исследователи, применившие второй метод, основанный на использовании искусственных языков-посредников между людьми и животными. В частности, язык жестов глухих позволил человеку вступить в прямой диалог с шимпанзе,

а картинки-лексиграмы используются в общении как с приматами, так и с дельфинами и даже с собаками. Этот метод, однако, дает возможность общаться с представителями ограниченного количества видов (антропоиды, дельфины, попугаи), способных овладеть языком, предложенным экспериментаторами (Резникова, 2008; Reznikova, 2007). Кроме того, этот метод не дает возможности судить о способах естественной коммуникации животных.



И в природе, и в лаборатории рыжие муравьи передают информацию с помощью быстрых и разнообразных движений антенн, ног и нижнечелюстных щупиков. Фото Т. Новгородовой



Язык животных и теория информации

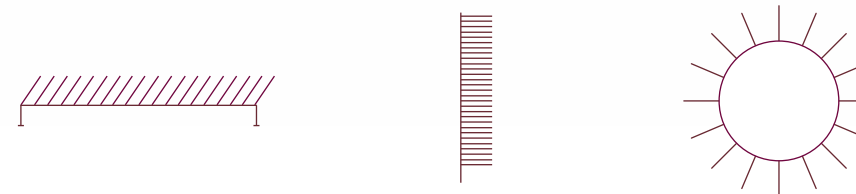
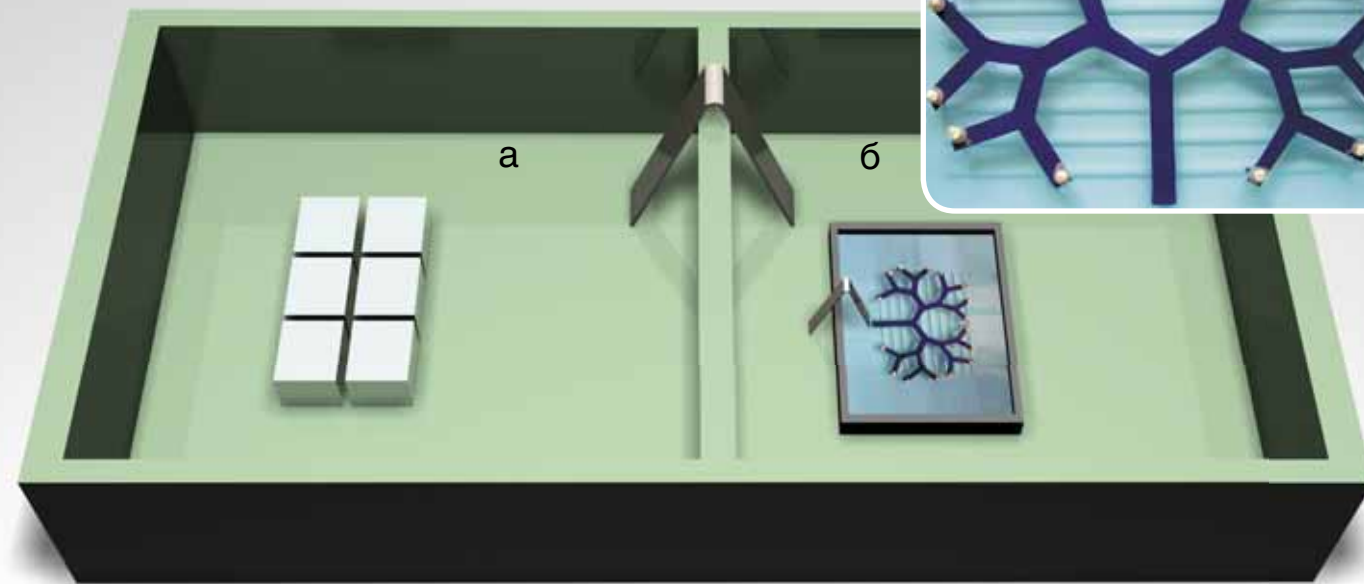
Суть нового, теоретико-информационного подхода, состоит в том, что система коммуникации животных исследуется как средство передачи информации — конкретной, количественно измеримой величины. В экспериментах создается ситуация, когда животные вынуждены передать друг другу заранее известное исследователям количество информации. При этом измеряется время, затраченное на ее передачу, т.е. оценивается скорость передачи информации. Этот подход не дает сведений о природе коммуникативных сигналов, зато открывает новые возможности оценки таких свойств систем коммуникации, как скорость передачи информации, адаптивность коммуникативных систем животных, их способность улавливать закономерности и использовать их для «сжатия» передаваемых сообщений.

В течение многих лет мы исследовали свойства и потенциальные возможности коммуникативной си-

Открытие символического «языка» муравьев в британской газете *The Independent on Sunday* (от 15 ноября 1998 г.) названо одним из самых значительных результатов, достигнутых в биологии во второй половине XX в. (Michie, 1998)

стемы муравьев на «лабораторных аренах» с помощью лабиринта «бинарное дерево» (Резникова, Рябко, 1986, 1990). Лабиринты монтировались из пластиковых планок, в кюветах с водой, куда муравьи могли зайти по съемному мостику. В простейшем случае «дерево» состояло из одной развилки, а на концах двух «листьев» находились кормушки: одна пустая, другая с сиропом. Чтобы найти ее, муравьи должны были сообщить друг другу сведения: «иди налево» или «иди направо», т.е. 1 бит информации. В других опытах количество развилки менялось, доходя до шести. На таких разветвленных лабиринтах муравьи могли быстро отыскать корм только в том случае, если получали от разведчика сведения о последовательности поворотов типа «ЛПЛППЛ» (Лево, Право, ... и т.д.). При шести развилках в лабиринте разведчикам необходимо было передать 6 битов информации. Для того чтобы оценить потенциальную продуктивность муравьиного языка, выявленную с помощью бинарного дерева, подсчитаем минимальное количество сообщений, необходимое насекомым при работе с лабиринтами. Бинарное дерево с двумя развилками содержит 2^2 возможных пути, с тремя — 2^3 , а с шестью — 2^6 путей; следовательно, общее число возможных путей к цели равно $2 + 2^2 + 2^3 + \dots + 2^6 = 126$. Это минимальное количество сообщений, которые разведчики должны передавать, чтобы другие муравьи смогли достичь кормушки, помещенной на любой лист бинарного дерева с шестью развилками.

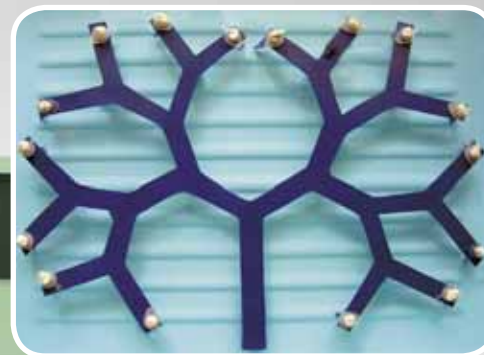
В экспериментах муравьев метили индивидуальными цветными метками и наблюдали за ними в прозрачных лабораторных гнездах. Оказалось, что при решении сложных задач среди муравьев выделяются постоянные рабочие группы, состоящие из одного разведчика и 4–8 фуражиров. Каждый разведчик, найдя пищу, вступает в контакт только со своей группой. Когда разведчик возвращался к гнезду после удачного похода за сиропом, мы измеряли длительность его контактов с фуражирами, соответствующую времени передачи информации. В это время лабиринт заменяли тождественным, но «свежим», лишенным каких бы то ни было следов. Даже сиропа уже не было — все кормушки содержали воду. Таким образом, исключалось использование пахучей тропы, которую мог бы оставить муравей в лабиринте, а также самого запаха пищи. При этом фуражиры, пообщавшись с разведчиком, были вынуждены действовать самостоятельно: разведчика изымали пинцетом и временно отсаживали. Важно заметить, что



Схематическое изображение разных вариантов «счетных лабиринтов». Муравьи в разных опытах должны передать друг другу информацию о том, на какой «ветке» счетного лабиринта находилась кормушка с сиропом. Для того чтобы исключить зависимость муравьиного сообщения от формы лабиринта или размера ветки, их меняют в разных сериях экспериментов. Засчитываются только результаты муравьиных «экзаменов»: группа фуражиров после контакта с разведчиком должна прийти на свежий (лишенный пахучего следа) лабиринт, на котором в это момент отсутствует кормушка с едой

муравьи были чрезвычайно заинтересованы в решении предложенной задачи: они получали пищу раз в два дня и только в лабиринте.

Как мы уже знаем, в опытах с «бинарным деревом» количество информации (в битах), необходимое для выбора правильного пути в лабиринте, равно числу развилки. Оказалось, что у муравьев с групповой организацией фуражировки (высоко социальных муравьиных «приматов», таких как рыжие лесные муравьи), зависимость между временем контакта разведчика с фуражирами и количеством передаваемой информации близка к линейной. Она описывается уравнением $t = ai + b$, где t — время контакта разведчика с фуражирами, i — число развилки (равное количеству передаваемой информации), a — коэффициент пропор-



Принципиальная схема лабораторной установки для исследования коммуникации муравьев с помощью лабиринта «бинарное дерево». Муравьи находятся в жилой части лабораторной арены (а) в прозрачном гнезде, чтобы можно было наблюдать их контакты друг с другом. На рабочую часть арены (б), где в кювете с водой из пластиковых планок монтируется сменный лабиринт, муравьи попадают по съемному мостику

циональности, равный скорости передачи информации (1 бит в минуту), b — константа, введенная нами, так как муравьи, в принципе, могут передавать дополнительную информацию, не имеющую прямого отношения к поставленной задаче, например, сигнализировать: «появился сироп». По полученным эмпирическим данным оценивались параметры уравнения линейной регрессии a и b и вычислялся выборочный коэффициент корреляции r . Такие данные получены для рыжих лесных муравьев и еще для двух высоко социальных видов из того же подсемейства (отметим, что в опытах участвовали и другие виды муравьев, у которых не казалось ничего похожего на «символический язык»). Большие значения коэффициентов корреляции для трех видов «муравьиных приматов» подтвердили гипотезу о том,



Группа муравьев пришла на нужную «ветку» «счетного лабиринта», хотя ни пахучей тропы, ни кормушки здесь уже нет. Фото автора

что зависимость между временем контакта разведчика и фуражиров и количеством передаваемой информации (числом развилок i) близка к линейной. Полученная закономерность позволила узнать, что скорость передачи информации у муравьев примерно в 10 раз ниже, чем у человека — около 1 бита в минуту. Однако и это немало, а возможности коммуникативной системы насекомых оказались, как мы сейчас увидим, поистине впечатляющими.

Гении общения

«Договорившись» с муравьями, мы научились использовать механизмы их коммуникации для изучения общих свойств интеллекта. Дело в том, что в современной когнитивной этологии накопилось множество сведений, позволяющих предположить, что разные виды животных могут проявлять признаки очень высоко развитых познавательных способностей в пределах довольно узких доменов. Такие области «интеллектуального прорыва» нелегко бывает обнаружить. Например, сойки и белки способны запомнить расположение тысяч тайников, в которых они спрятали пищу, но это еще не значит, что они смогут, скажем, найти выход из сложного лабиринта успешнее, чем это сделает крыса. А вот крыса далеко превзойдет в этом

искусстве человека, зато ей не дано индивидуально распознать и запомнить сотни своих сородичей, как это делают приматы (в том числе люди) и слоны. Новокаледонские галки оказались, как это недавно выяснилось, «гениями» орудийной деятельности: в способностях быстро преобразовывать разные предметы и использовать их для решения сложных пространственных задач эти птицы превосходят столь признанных наукой умельцев, как шимпанзе. Теперь, после четвертьвековых исследований, у нас есть веские основания считать, что некоторые виды муравьев являются «гениями общения»: они могут решать сложнейшие, доступные немногим видам животных задачи, но только в тех ситуациях, когда надо запомнить и эффективно передать сородичам информацию о богатом источнике пищи. В других обстоятельствах насекомые демонстрируют скромные интеллектуальные возможности. Однако и этого мостика, который удалось перекинуть в неведомую доселе область когнитивной деятельности существ, столь непохожих на нас, оказалось достаточно, чтобы обнаружить проявления общих закономерностей и предложить методы, которые, можно надеяться, послужат для изучения интеллекта разных видов социальных животных.

Лабиринт «бинарное дерево» позволил нам исследовать одну из

важнейших характеристик языка и интеллекта его носителей, а именно: способность быстро подмечать закономерности и использовать их для кодирования, «сжатия», информации. Для языков человека показано, что размер сообщения о некотором объекте или явлении должен быть тем меньше, чем оно «проще», т.е. чем легче в нем обнаружить закономерности. Например, человеку легче запомнить и передать последовательность поворотов на пути к цели «ЛПЛПЛП-ПЛПЛПЛПЛП» (налево—направо, и так 7 раз), чем более короткую, но неупорядоченную последовательность «ПЛЛПППЛП». Опыты с «бинарным деревом» показали, что «язык» и интеллект муравьев позволяют им использовать простые закономерности «текста» для его сжатия (здесь «текст» — последовательность поворотов на пути к кормушке). Так, муравьи затрачивали в несколько раз меньше времени на передачу сообщения «ЛЛЛЛЛ» (пять раз налево), чем на передачу сведений о случайной последовательности той же длины.

Серии опытов с другими экспериментальными установками выявили способность муравьев к счету и даже к осуществлению простейших арифметических операций. В этих опытах муравьи опять-таки были поставлены перед необходимостью передать сородичам информацию о местонахождении приманки, которая помещалась то в одной из точек по-разному искривленных координатных сетей, то на одной из десятков «веточек», отходящих от прямого, горизонтального или вертикального ствола. Система коммуникации муравьев оказалась настолько пластичной, что это позволило им «вводить» особые «обозначения» для тех веток, на которых приманка по воле экспериментаторов оказывалась значительно чаще, чем на остальных.

Описание этих опытов заняло бы слишком много места. Они опубли-

кованы во многих российских и зарубежных журналах и вошли в учебники автора, изданные в Кембридже и в российских издательствах (Резникова, 2005, 2007; Резникова, Рябко, 1995, 1999; Reznikova, Ryabko, 1994, 2001, 2003).

Полученные результаты позволили доказать наличие у муравьев развитого языка и комплекса когнитивных способностей, о которых ранее не могли и думать (способность к улавливанию закономерностей, «сжатию» информации, счету). Можно предположить, что пластичность коммуникативных систем — один из основных критериев интеллекта животных, и этот критерий может быть использован для изучения разных видов социальных животных. Применение нового метода изучения языкового поведения, основанного на идеях и методах теории информации, открывает новые перспективы не только в сравнительной и когнитивной этологии, но также в лингвистике и робототехнике.

Литература

Резникова Ж.И. Различные формы обучения у муравьев: открытия и перспективы // Успехи совр. биологии. — 2007. — Т. 127, вып. 2. — С. 66—174.

Резникова Ж.И. Современные подходы к изучению язы-

кового поведения животных // Разумное поведение и язык. Языки славянских культур. М., 2008. — С. 293—337.

Резникова Ж.И., Новгородова Т.А. Индивидуальное распределение ролей и обмен информацией в рабочих группах муравьев // Успехи совр. биологии. — 1998. — Т. 118, вып. 3. — С. 345—356.

Резникова Ж.И., Рябко Б.Я. Анализ языка муравьев методами теории информации // Проблемы передачи информации. — 1986. — Т. XXII, № 3. — С. 103—108.

Резникова Ж.И., Рябко Б.Я. Теоретико-информационный анализ «языка» муравьев // Журн. общ. биологии. — 1990. — Т. 51, № 5. — С. 601—609.

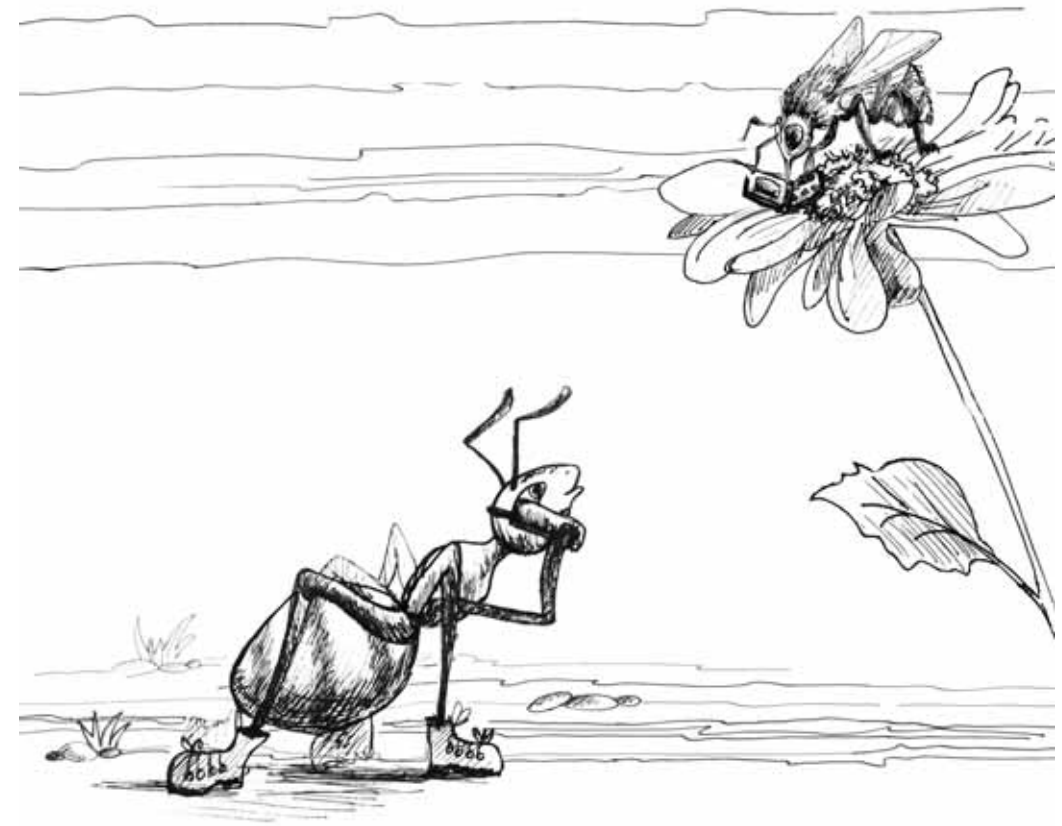
Reznikova Zh. Animal Intelligence: From Individual to Social Cognition. — Cambridge University Press, 2007. — 488 p.

Reznikova Zh. Dialog with black box: Using Information Theory to study animal language behaviour // Acta Ethologica (Springer). — 2007. — № 10. — P. 1—12.

Reznikova Zh., Ryabko B. A study of ants numerical competence // Electronic Transactions on Artificial Intelligence. — 2001. — № 5. — P. 111—126.

Ryabko B., Reznikova Zh. Using Shannon Entropy and Kolmogorov Complexity to study the communicative system and cognitive capacities in ants // Complexity. — New York. — V. 2, N2. — P. 37—42.

Рисунок П. Рябко





ФОТОРЕПОРТАЖ Е. КИСЕЛЕВОЙ

ВОЛШЕБНЫЕ КАРТИНЫ МИКРОКОСМА



«Осторожно, вход воспрещен»

Ядро с ядерными поровыми комплексами изолировано из клетки дрожжей по методу, разработанному автором на основе метода Миллера. Снимок впервые демонстрирует высокое сходство в организации ядерных пор низших и высших эукариот, которые служат своеобразной «таможней», поскольку только ионы и небольшие (около 9 нм) молекулы могут свободно диффундировать через пору, а остальным молекулам для транспорта требуется наличие в их составе «пропусков» — специфических сигнальных последовательностей

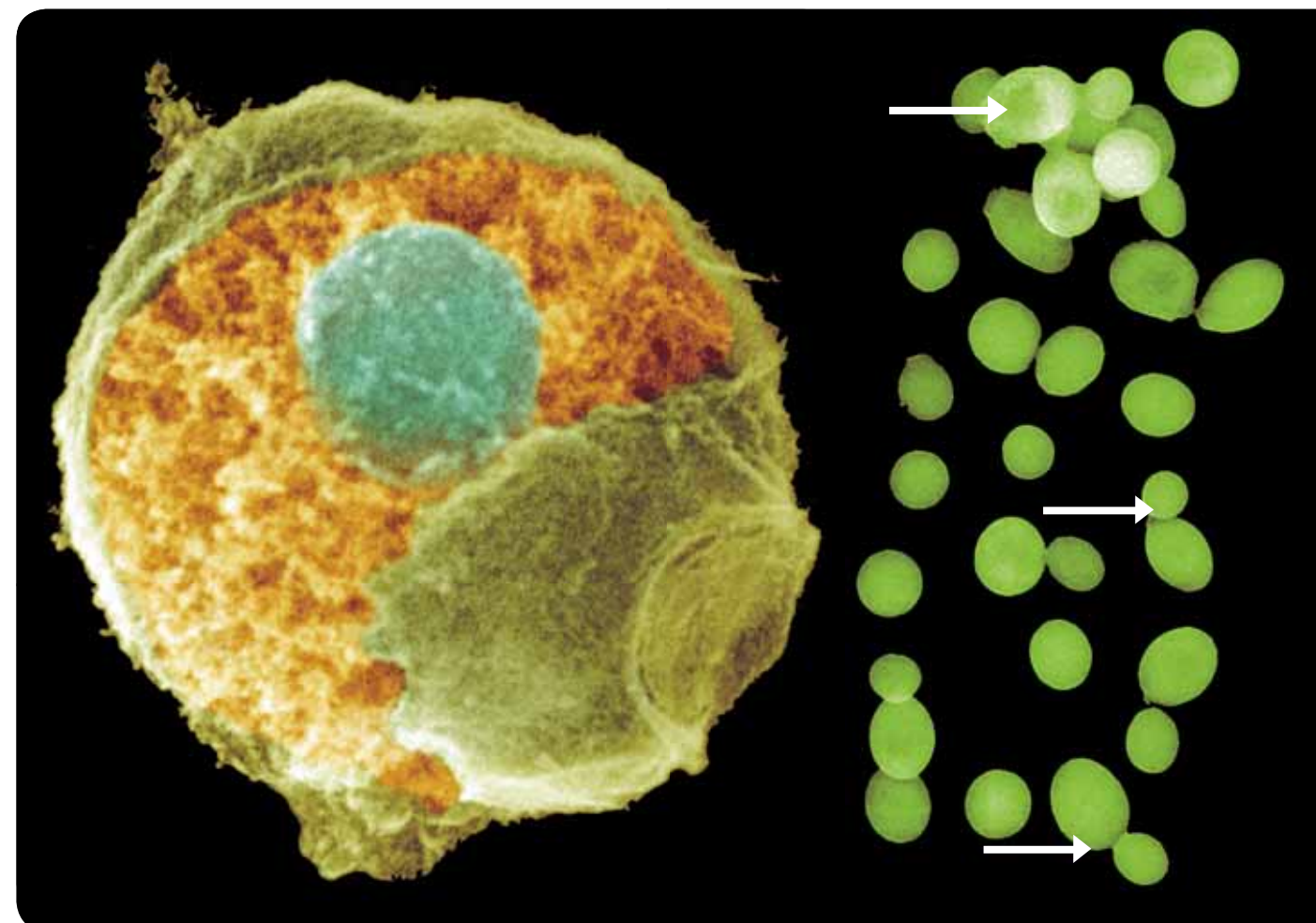
Электронная микроскопия дает ученым возможность заглянуть внутрь клетки, которую можно представить в виде Вселенной в миниатюре. И наши познания о ней также не имеют конца, как и познания о Космосе. Тем сильнее наше стремление заглянуть глубже и познать больше. С помощью современных оптических микроскопов ученые могут видеть только такие крупные компоненты клетки, как митохондрии и ядро. Но когда на помощь приходит сканирующая электронная и атомно-силовая микроскопия, то пытливого глазу исследователя становятся доступны объекты размером в несколько нанометров

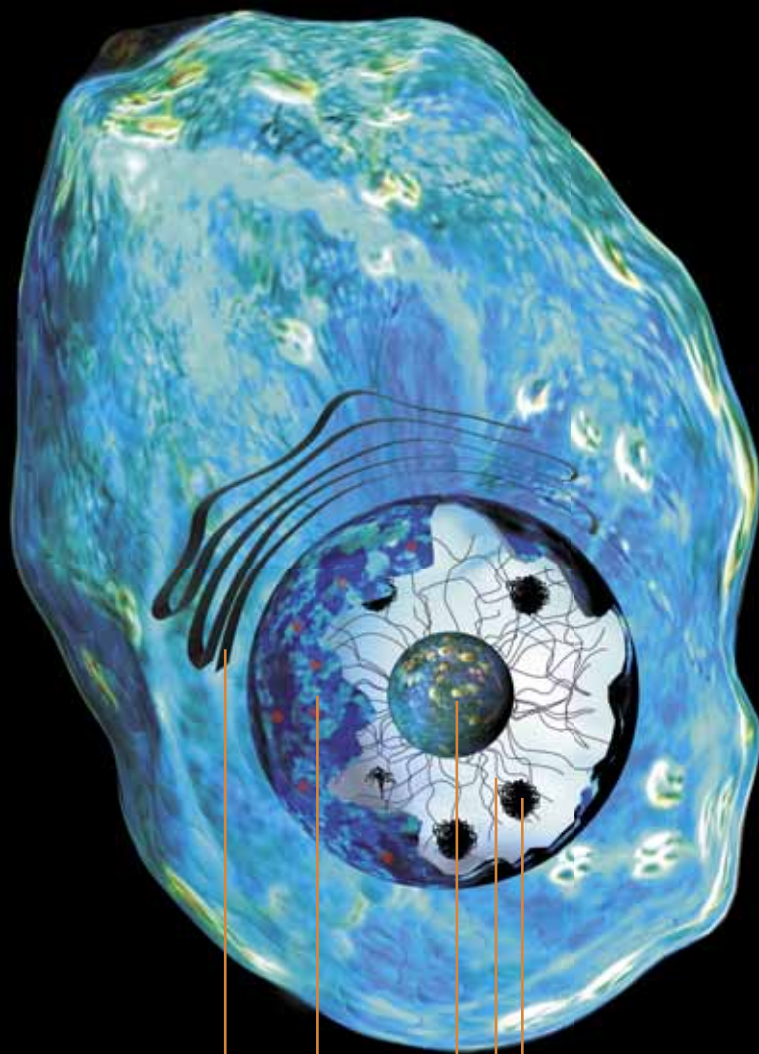
КИСЕЛЕВА Елена Владимировна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории морфологии и функции клеточных структур Института цитологии и генетики СО РАН. Сфера научных интересов: организация, функция и динамика внутриклеточных структур. Автор около 200 научных работ



Дрожжевая клетка с удаленным фрагментом клеточной оболочки. Видно округлое ядро и цитоплазматические структуры

Дрожжевые клетки под световым микроскопом. Стрелками показаны почкующиеся дрожжи





Мембраны
эндоплазматического
ретикулума

Хроматин

Внутриядерные
филаменты

Ядерная
оболочка

Ядрышко

Гипотетическая схема строения клеточного ядра

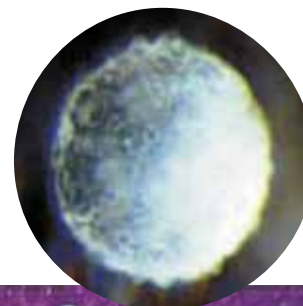
В настоящее время электронная микроскопия (ЭМ) нашла широкое применение в микробиологии, вирусологии, биохимии, онкологии, медицинской генетике и иммунологии. Благодаря ЭМ раскрыта субмикроскопическая структура клеток, открыт ряд неизвестных ранее клеточных органелл, таких как лизосомы, рибосомы, эндоплазматический ретикулум, микротрубочки, цитоскелет и прочие структуры, специфичные для разных видов клеток. Электронная микроскопия позволила понять многие тонкие механизмы развития болезней, в том числе на ранних этапах их возникновения, еще до появления четкой клинической симптоматики.

К сожалению, просвечивающая электронная микроскопия ограничена в своих возможностях по исследованию и диагностике поверхности клеточных структур, и лет пятнадцать назад вопрос о том, как заглянуть внутрь ядра и получить трехмерное изображение внутриядерных и околоядерных структур, был неразрешим. Дело в том, что тонкие срезы ткани, которые изучаются под микроскопами, являются двумерными срезами и не позволяют судить о трехмерной структуре клеточных компонентов. Трехмерное изображение можно получить после реконструкции сотен серийных срезов, но это длительный и трудоемкий процесс.

В настоящее время разработаны более прямые методы получения трехмерного изображения. Один из них состоит в изучении образца в *сканирующем электронном микроскопе (СЭМ)*, который обычно меньше и проще, чем *просвечивающий электронный микроскоп*.

Для получения изображения в просвечивающем электронном микроскопе используют электроны, проходящие через образец, а в сканирующем электронном микроскопе регистрируются электроны, рассеиваемые или излучаемые

Ядро, выделенное вручную из ооцитов* лягушки

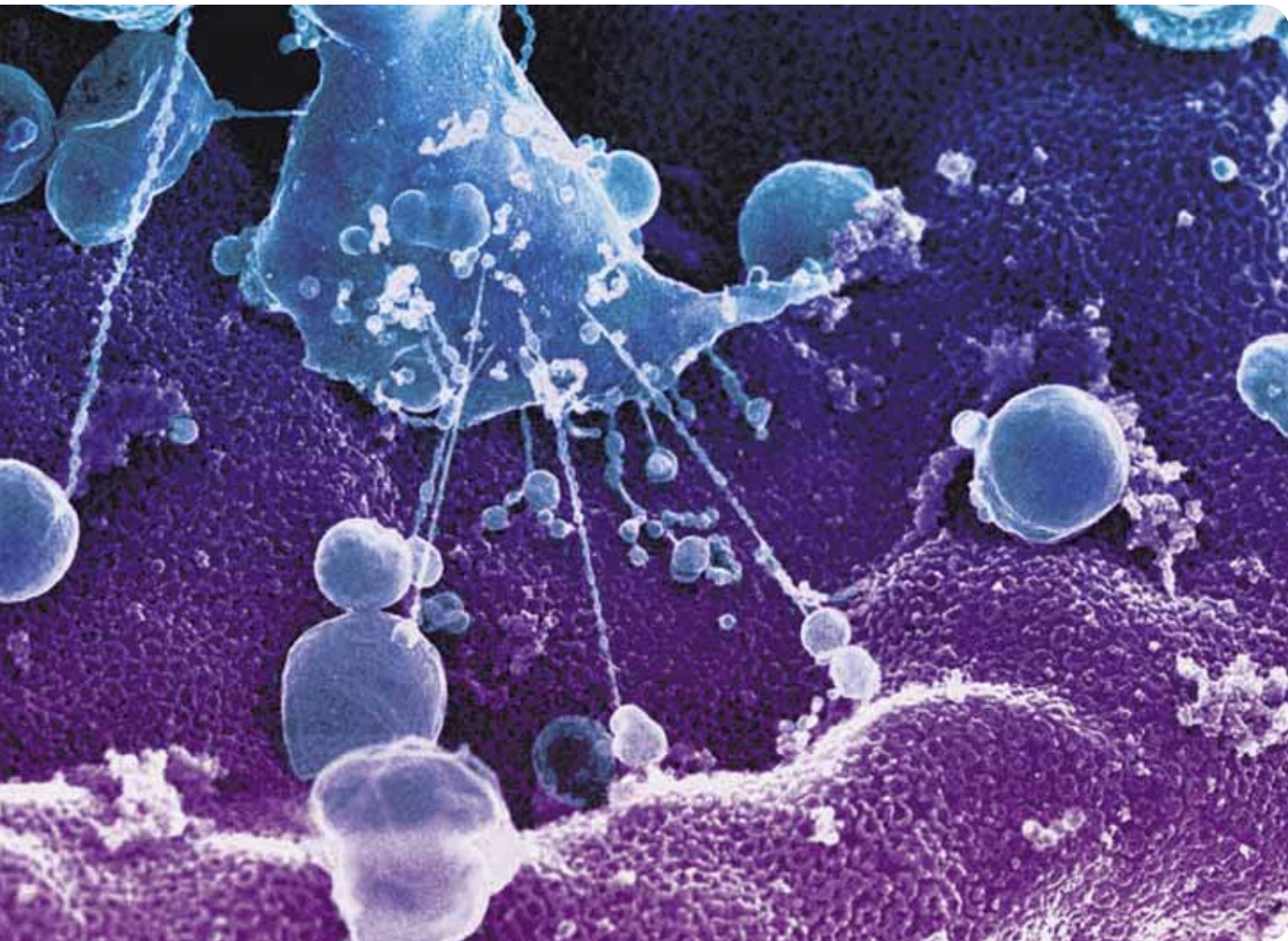


Ооциты лягушки на разных стадиях развития



«Мембранная рапсодия»
Мембранные компоненты эндоплазматического ретикулума на поверхности ядра ооцита лягушки. Эндоплазматический ретикулум (ЭПР) — система пузырьков, цистерн и трубочек, связанных между собой в единое внутриклеточное пространство, отделенное от остальной части цитоплазмы замкнутой внутриклеточной мембраной. Эта сеть пронизывает все цитоплазматическое пространство клетки и состоит из двух типов ЭПР — шероховатого, покрытого рибосомами и гладкого, без рибосом. Главной функцией эндоплазматического ретикулума первого типа является биосинтез (с помощью рибосом), модификация и транспортировка белков. ЭПР второго типа обеспечивает синтез липидов и полисахаридов. Мембраны ЭПР тесно взаимодействуют с различными органеллами клетки, а также с ее плазматической мембраной и ядерной оболочкой, в формировании которой при делении и росте клеток они принимают активное участие

* *Ооцитом* называется женская половая клетка в период ее роста в яичнике

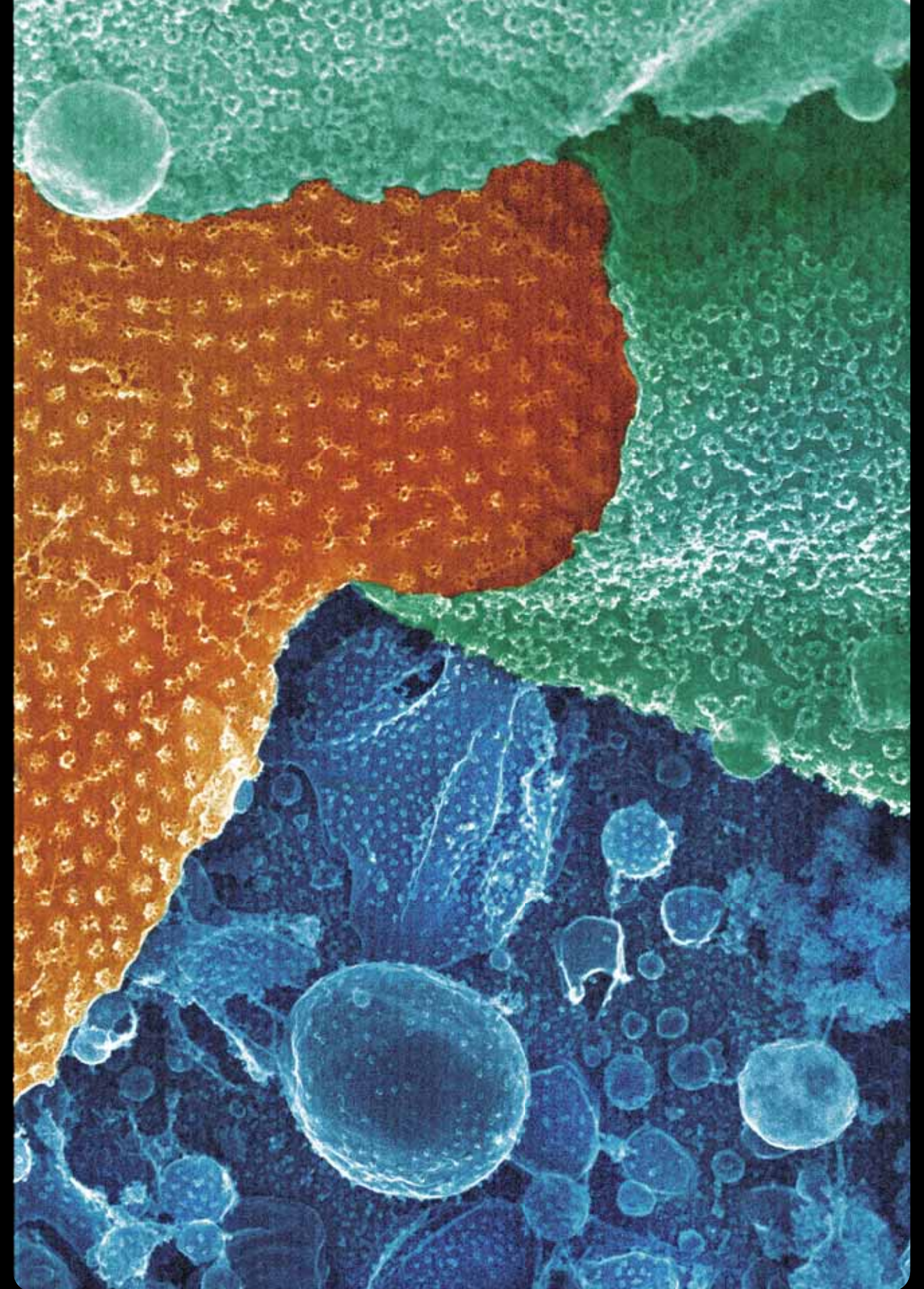


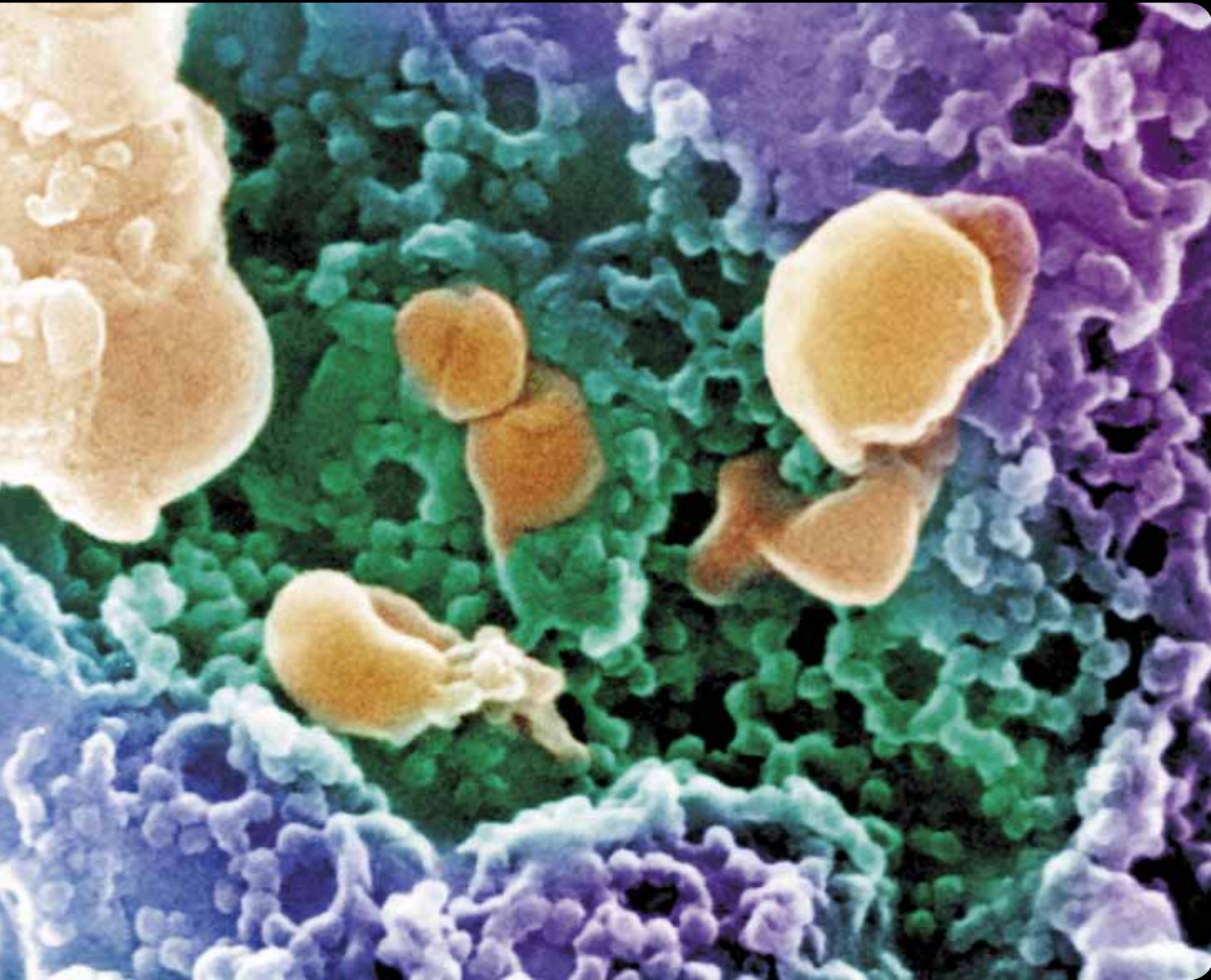
▲ «Синий спрут»

Мембранные компоненты эндоплазматического ретикулума на поверхности ядра, изолированного из ооцита лягушки. Мембранные компоненты ЭПР (цистерны, пузырьки, трубочки) принимают активное участие в сборке новых фрагментов ядерной оболочки растущих неделящихся ядер. Мембраны ЭПР сливаются с наружной мембраной ядра, затем часть мембран ЭПР перемещается на внутреннюю мембрану и сближается с наружными мембранами, формируя новый участок ядерной оболочки

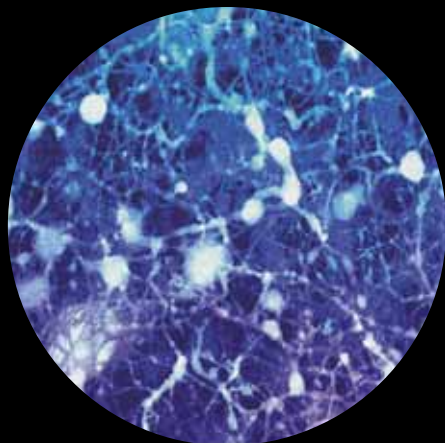
▶ «Очевидное невероятное»

Снимок ядерной оболочки ооцита лягушки. Одновременно можно видеть строение наружной (окрашена в зеленый цвет) и внутренней (окрашена в коричневый цвет) мембран ядерной оболочки, благодаря тому что фрагмент ядерной оболочки отогнули с помощью стеклянных иголок. Цитоплазматическую поверхность наружной мембраны можно видеть в верхней и правой части снимка, а внутриядерную поверхность внутренней мембраны — в нижней. Ядерная оболочка — это самый сложный мембранный компонент, вернее сказать, мембранный комплекс эукариотической клетки. Она разграничивает внутриклеточное пространство на два крупных компартмента — ядро и цитоплазму, а также разделяет процессы репликации ДНК, транскрипции и процессинга РНК от процессов трансляции и упаковки белков. Ядерная оболочка состоит из наружной и внутренней мембран, разделенных сорокнанометровым перинуклеарным пространством и контактирующих между собой в области ядерных поровых комплексов. К внутренней мембране ядерной оболочки тесно прилегает ламина-сеть промежуточных филаментов, образованных белком ламином, которая обеспечивает сферическую форму ядра и закрепляет ядерные поры в оболочке ядра

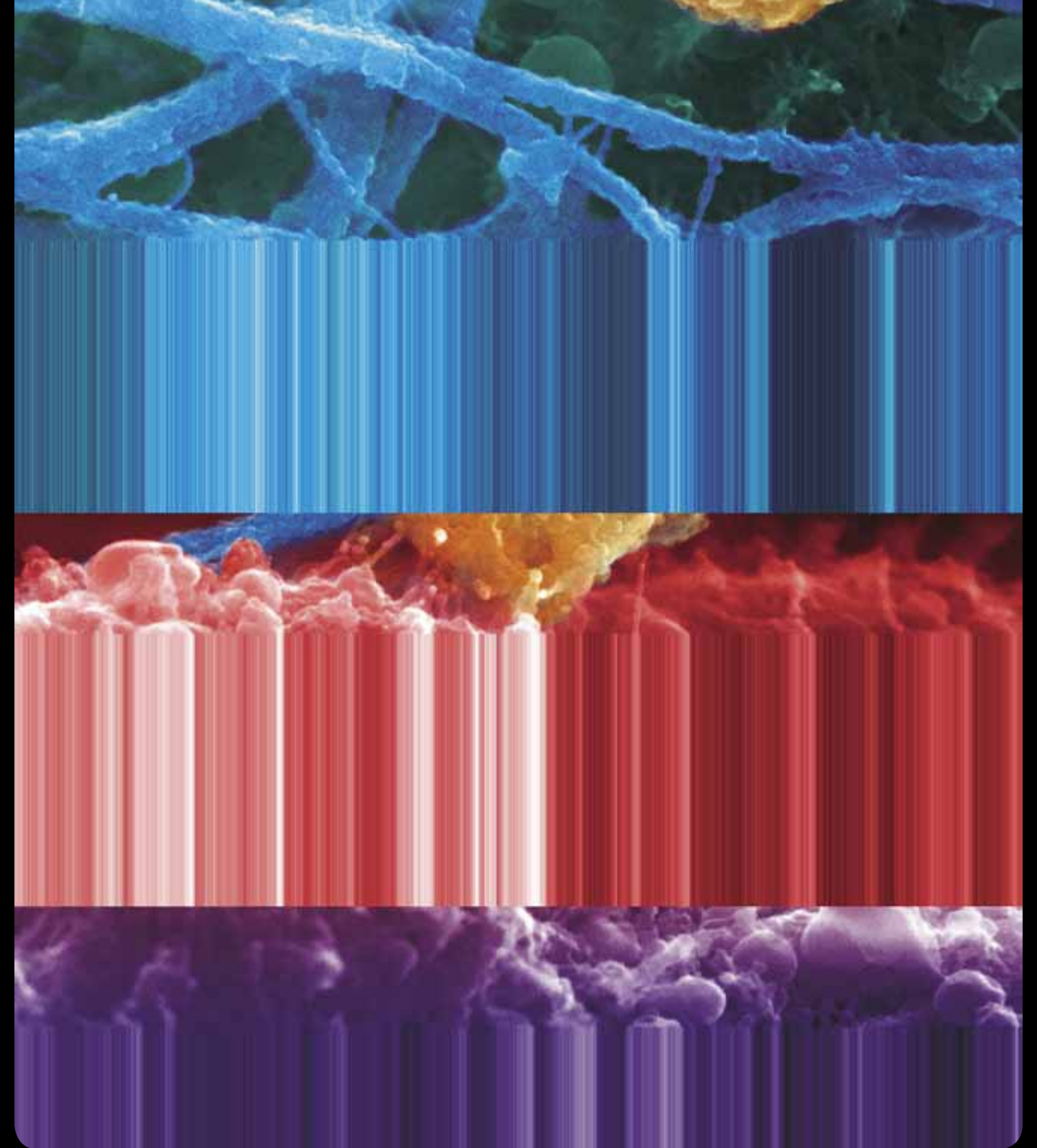




▲ Цитоплазматическая поверхность ядерной оболочки интерфазного ядра, выделенного из ранних эмбрионов дрозофилы. Видны ядерные поры и пузырьки эндоплазматического ретикулума

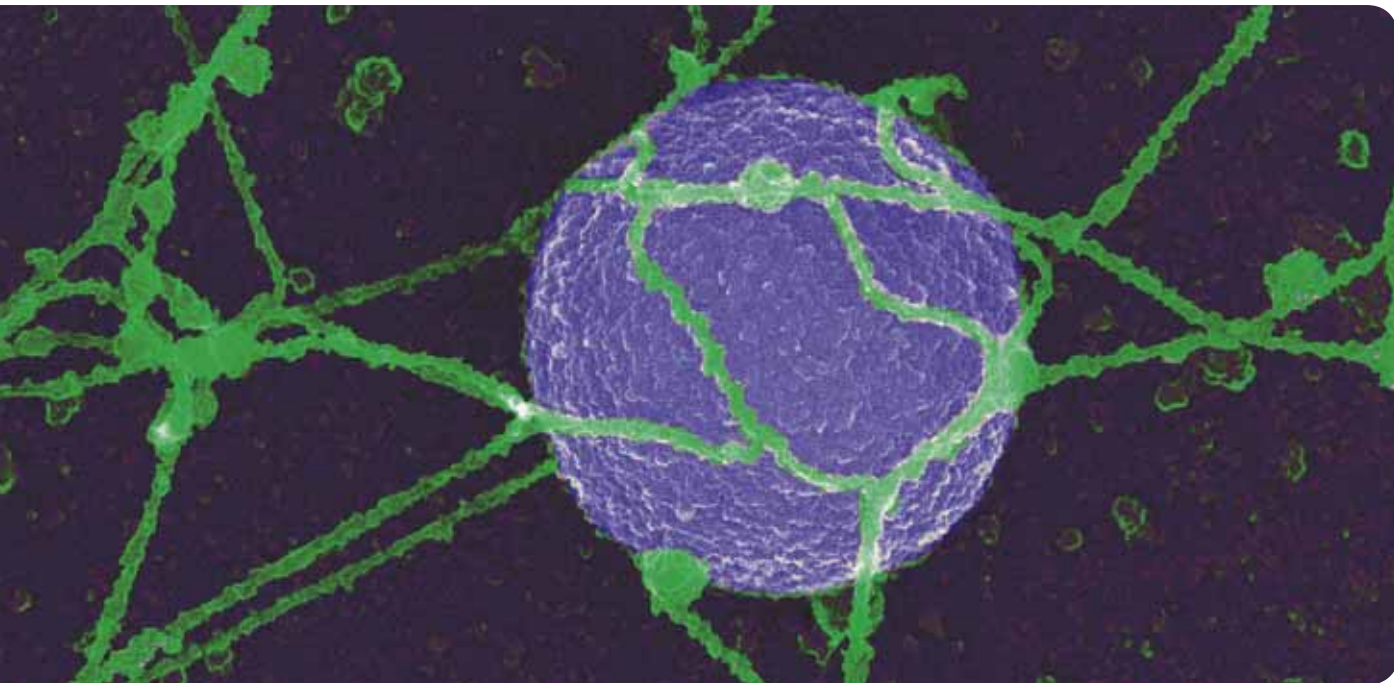


◀ Фрагмент содержимого ядра (нуклеоида) ооцита лягушки. Ядро выделили из ооцита, затем осторожно убрали ядерную оболочку и получили желеобразный шарик — нуклеоид, который сохраняет форму на короткое время, затем превращается в уплотненный сгусток. Можно различить сеть внутриядерных филаментов и сферические тельца



«Внутриядерные рельсы»
 Актинсодержащие филаменты внутриядерного матрикса ооцита лягушки. После выделения ядра из ооцита лягушки осторожно стеклянной иглой отвернули фрагмент ядерной оболочки и заглянули внутрь, сохранив контакты внутренней мембраны ядерной оболочки с внутриядерным содержимым. До сих пор идут споры о том, что обеспечивает распределение и организацию клеточных компонентов (хромосом, ядрышка, сферических телец, рибонуклеопротеидных (РНП) частиц)

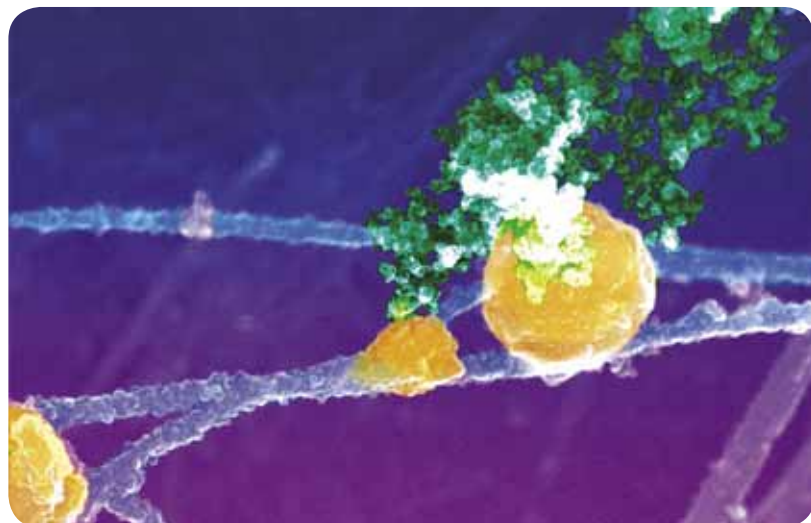
внутри ядра. Отметим, что в отличие от цитоплазмы все внутриядерные компоненты не имеют оболочек, тем не менее многие процессы внутри ядра — компартиментализованы, т. е. происходят, например, только в ядрышке или в определенных сферических тельцах. А хромосомы вообще занимают строго определенные области внутри ядра — так называемые «хромосомные территории». Предполагается, что ведущую роль в этом процессе выполняют ядерная оболочка и внутриядерный матрикс



поверхностью образца. Для изучения в СЭМ образец должен быть зафиксирован, высушен и покрыт тонкой пленкой тяжелого металла. Затем образец сканируется узким пучком электронов. Отраженные и рассеянные при облучении образца электроны попадают в детектор, анализирующий полученную информацию, которая затем преобразуется в увеличенное изображение на экране.

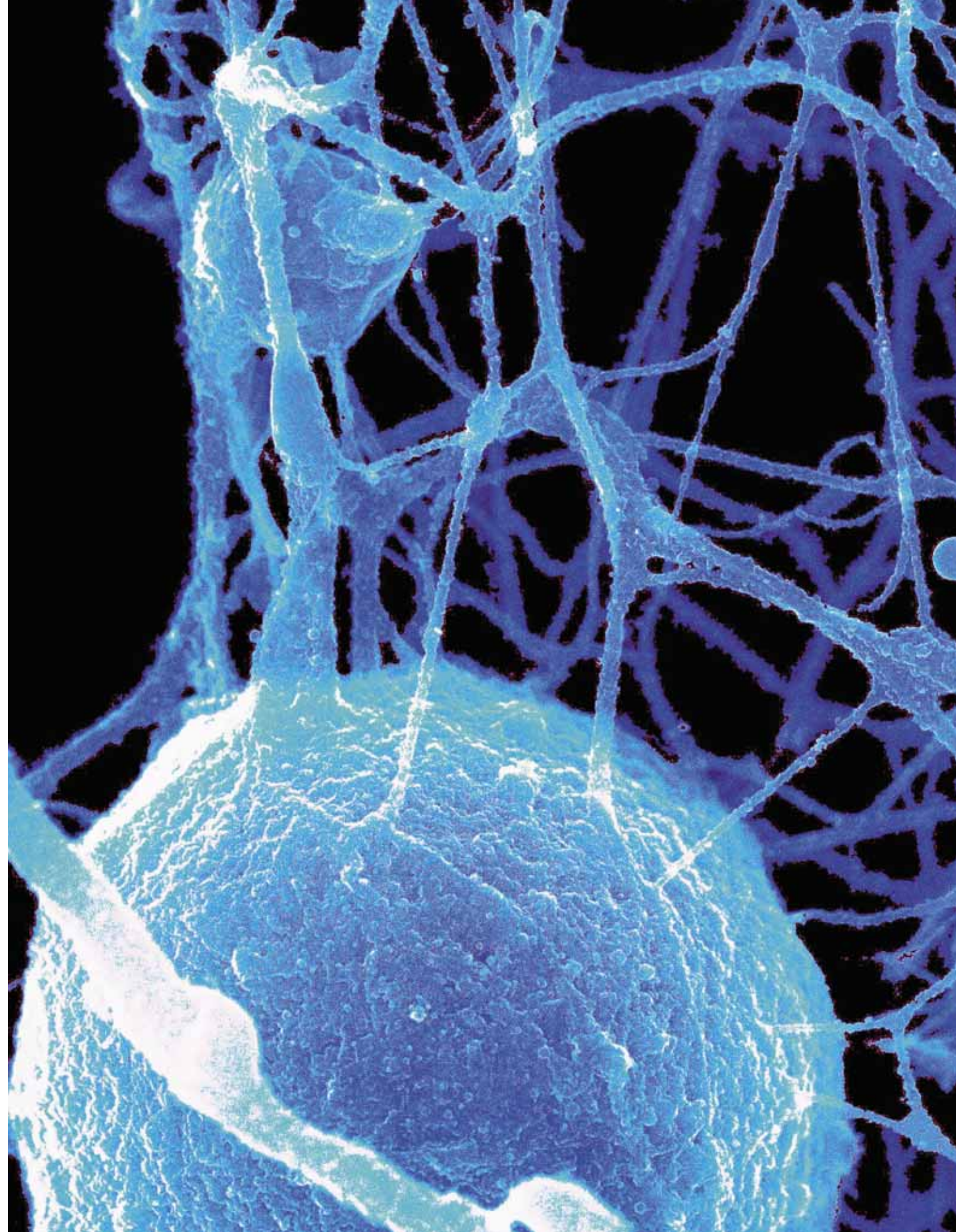
Метод сканирующей электронной микроскопии обеспечивает значительную глубину фокусировки. Более того, поскольку масштабы рассеивания электронов определяются углом поверхности по отношению к сканирующему лучу, то на изображении возникают чередующиеся светлые и темные участки, создающие впечатление трехмерности. А с появлением *высокоразрешающего сканирующего автоэмиссионного электрон-*

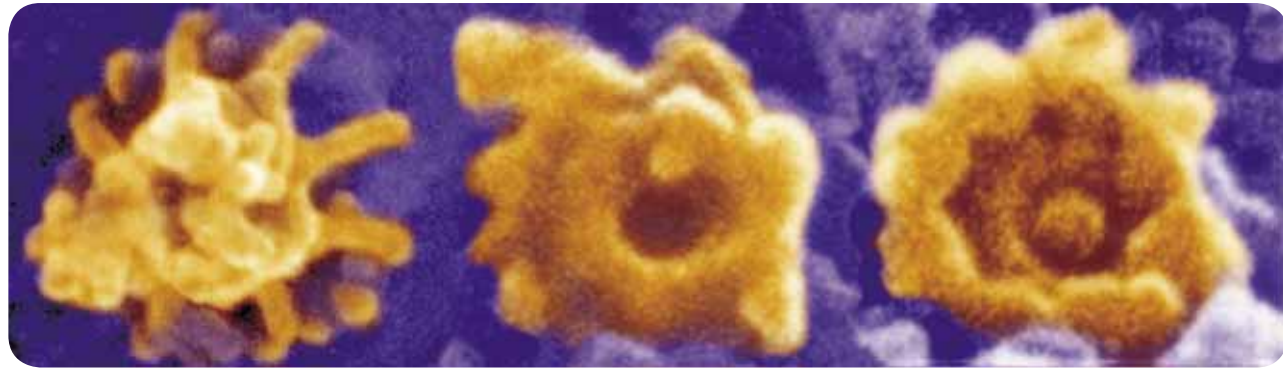
▲
«Неизвестная планета»
Сферическое тельце Кохала,
содержащее белки для сплайсинга
(удаление интронов из молекулы)
РНК, подвешенное
на внутриядерных
актинсодержащих нитях



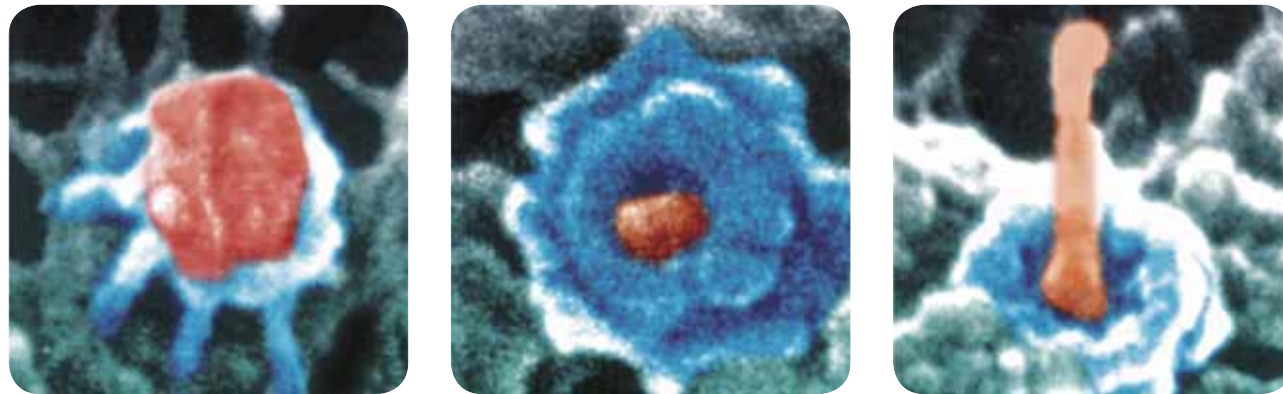
◀ Контакт хроматина (окрашен
зеленым) с актинсодержащими
филаментами и тельцем Кохала

Ядрышко, подвешенное
на актинсодержащих нитях
внутри ядра ▶





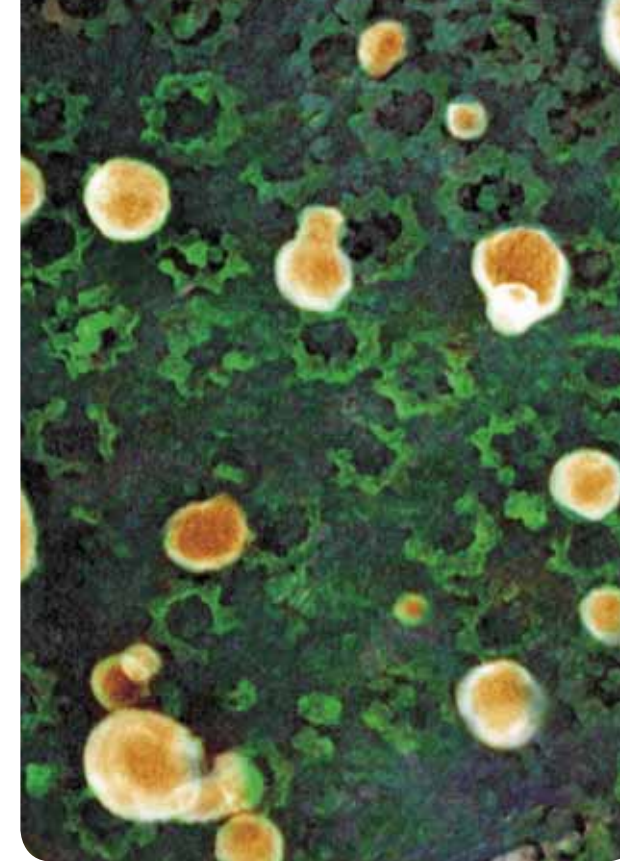
Три отдела неактивной ядерной поры на большом увеличении. Слева направо: внутриядерный, центральный и цитоплазматический компартменты



Активно функционирующая пора. Видно, как рибонуклеопротеидная фибрилла (РНП фибрилла) проходит через различные компартменты ядерной поры. Слева направо показано, как РНП частица сначала закоревается на верхушке башкета внутриядерного компартмента и начинает разворачиваться в фибриллу, так как размер канала ядерной поры меньше размера частицы. Затем мы видим фибриллу (окрашено темнокрасным) в канале центрального компартмента поры. И, наконец, — фибриллу РНП, выходящую из поры в цитоплазму



Схематическое изображение того, что видно на верхних снимках — представлены три стадии прохождения РНП фибриллы через разные отделы ядерной поры. Представленные снимки демонстрируют высокую сложность организации ядерной поры — этой миниатюрной космической станции, находящейся в глубинах живой клетки



Сборка ядерных поровых комплексов в участках сплавления пузырьков ЭПР с наружной ядерной мембраной

В процессе транскрипции на ДНК, молекула мРНК сразу упаковывается с белками (их около двадцати, они закручивают нить мРНК и покрывают ее защитной оболочкой) в РНП фибриллу (нитьку диаметром 10—20 нм), а затем в компактную РНП частицу (диаметром от 30 до 50 нм). Это с одной стороны защищает молекулу РНК от разрушения, а с другой обеспечивает ее эффективное перемещение внутри ядра. Внутреннее пространство ядра достаточно плотно заполнено различными структурами и молекулами. И в этом «столпотворении» мРНК частица должна переместиться к ядерной поре, закориться на ней и транспортироваться через центральный канал поры в цитоплазму, где на ней должен начаться процесс трансляции — синтеза белка. РНК-связанные белки играют большую роль в транспорте мРНК. Как показали наши исследования, часть белков удаляется с РНП частицы, когда пора находится в башкет структуре, а некоторые белки перемещаются с мРНК в цитоплазму и участвуют в процессе трансляции. Удаление части белков приводит к тому, что РНП частица разворачивается в более узкую РНП фибриллу, что обеспечивает ей эффективный транспорт через центральный канал поры, диаметр которого при этом расширяется до 25 нанометров

Все представленные в этой публикации снимки получены с использованием высокоразрешающего сканирующего электронного микроскопа фирмы Hitachi, на котором работала автор в Институте раковых исследований им. Паттерсона в г. Манчестер (Англия) в рамках совместного российско-английского проекта по исследованию структурной организации ядерной оболочки растущих неделящихся ядер, таких как ооциты амфибий и интерфазных ядер ранних эмбрионов дрозофилы

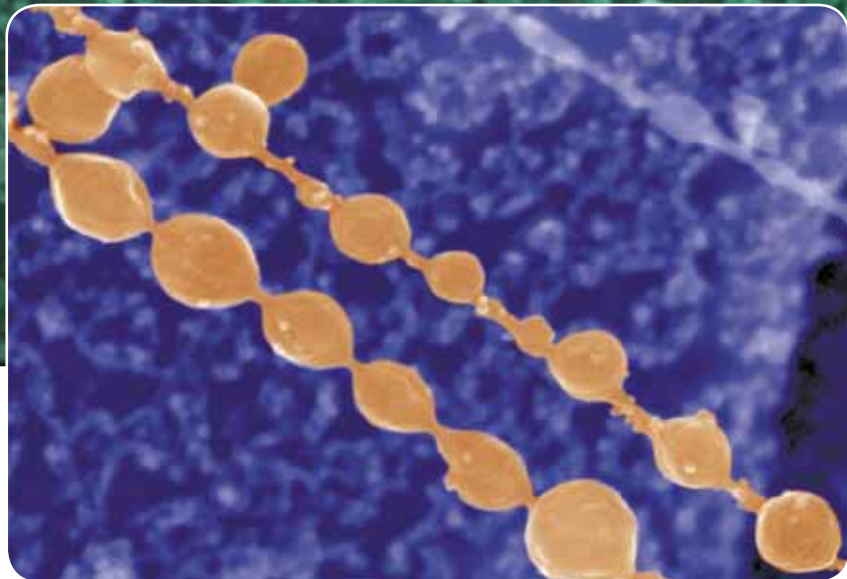
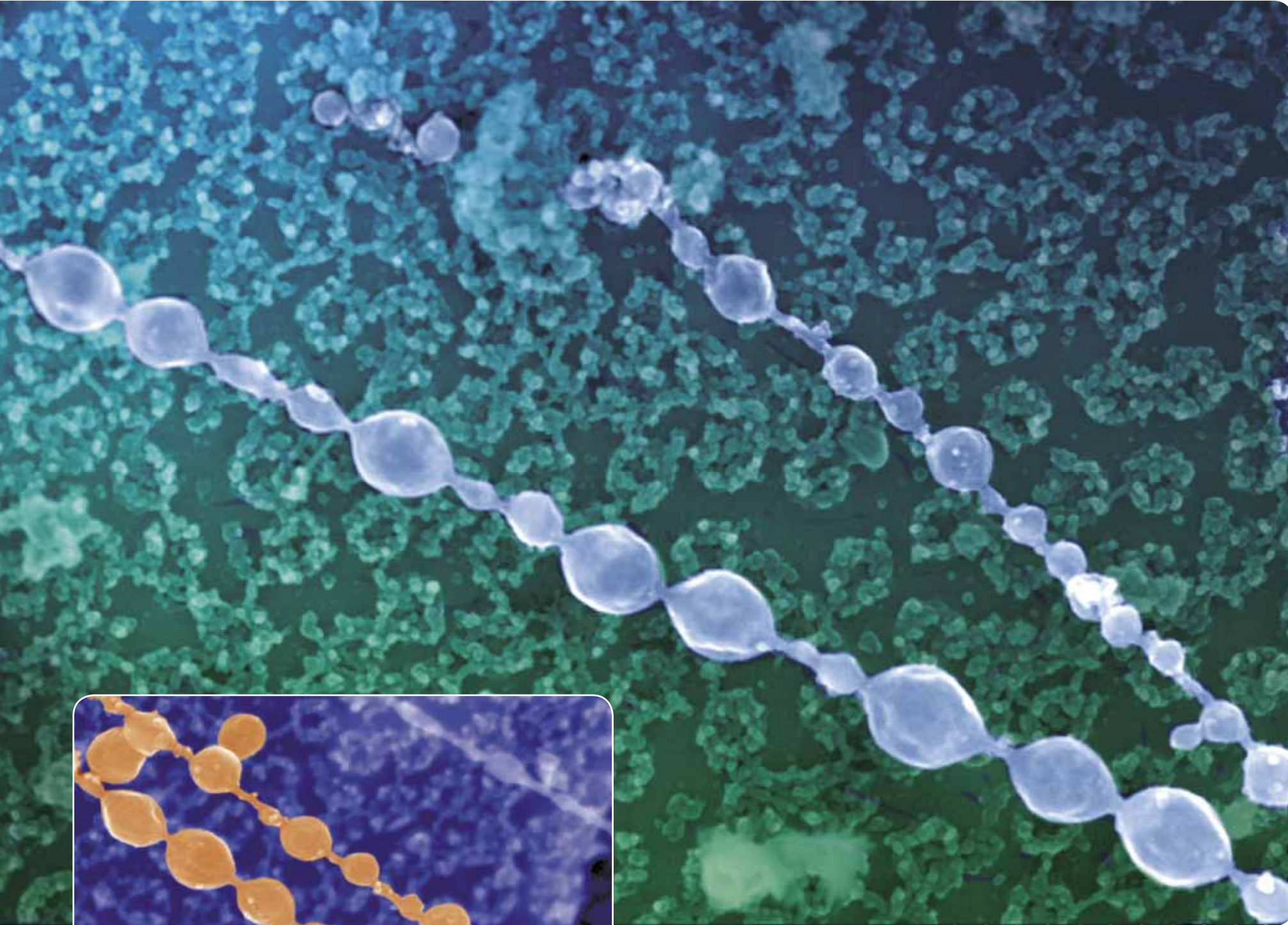
ного микроскопа (Field Emission in Lenz, фирмы Hitachi) ученым удалось получить уникальные трехмерные снимки цитоплазматической и внутриядерной поверхности ядерной оболочки, изучить тонкое строение ядерных поровых комплексов и заглянуть внутрь ядра.

В России первый подобный сканирующий микроскоп был приобретен в апреле 2008 г. Институтом биомедицинской химии РАН (Москва). К сожалению, институты Сибирского отделения РАН такого микроскопа для биологических исследований пока не имеют, несмотря на то что в группе Е. В. Киселевой разработаны методы для изучения биологических образцов в SEM, позволившие получить большое количество новых уникальных данных о строении и динамике структур наноразмеров, таких как ядерные поры (диаметр 100 нм), филаменты внутриядерного матрикса (диаметр 12 нм) и др.

Можно надеяться, что подобный микроскоп появится вскоре и в центре коллективного пользования Института цитологии и генетики СО РАН, что обеспечит дальнейший прогресс в изучении организации различных компонентов клеточного микрокосмоса.

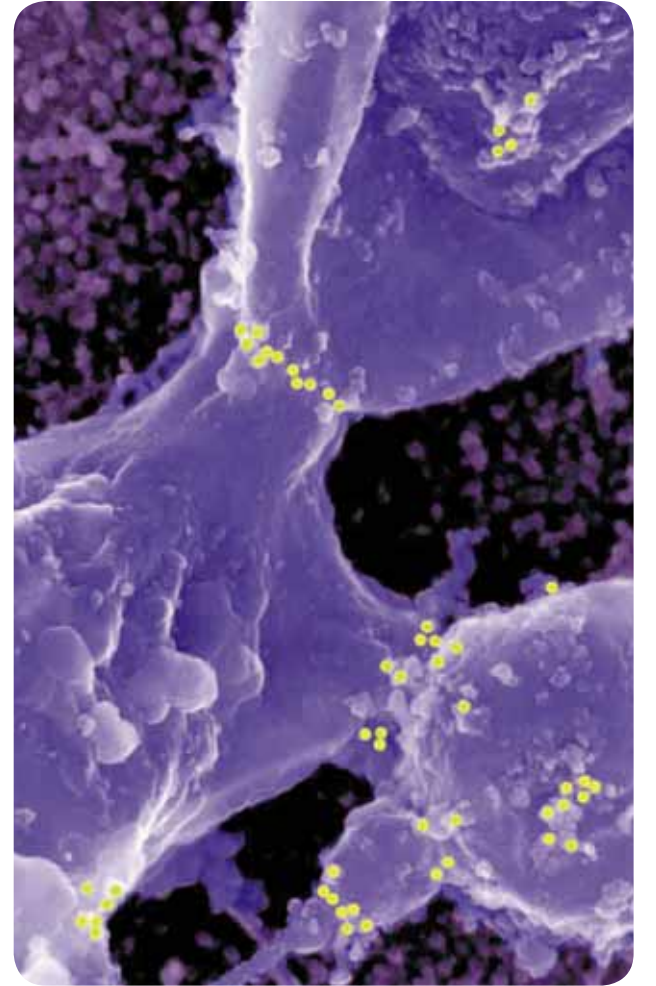
Все демонстрируемые снимки получены с использованием высокоразрешающего сканирующего электронного микроскопа, который использовался во время кратковременных командировок ведущего научного сотрудника Е. В. Киселевой в Институт раковых исследований им. Паттерсона, в г. Манчестер Англия. Полученные на этом микроскопе снимки внутриклеточных структур по темам совместных исследований с английскими учеными опубликованы на обложках и разворотах таких журналов, как Nature Cell Biol., Nature Review Mol. Cell Biol., J. Cell Sci., J. Mol. Biol.

И у наших читателей сейчас появилась уникальная возможность заглянуть в волшебный мир клетки.



Цепочка мелких пузырьков ЭПР, в сплавлении которых, возможно, принимает участие ретикулон 4, на цитоплазматической поверхности ядерной оболочки ооцита лягушки

Все исследования, проведенные Е.В. Киселевой, выполнены при поддержке гранта РФФИ (07-04-00416) и Английского фонда Wellcome Trust



«Место встречи изменить нельзя»
 Локализация белка ретикулона в участках слияния пузырьков эндоплазматического ретикулума. Белки ретикулон обнаружены во всех эукариотах и являются интегральными мембранными белками, т.е. встроены в клеточные мембраны. Известны четыре гена, кодирующих ретикулон 1, 2, 3 и 4. В 2006 г. американскими исследователями было установлено, что белок ретикулон 4 (NogoA в другой транскрипции) может изменять кривизну мембран ЭПР в условиях *in vitro* (в пробирке) и превращать его компоненты в микротрубочки. Мы впервые продемонстрировали в условиях *in vivo*, что этот белок локализуется в участках сплавления компонентов (пузырьков) ЭПР друг с другом, а также в участках сплавления компонентов ЭПР с наружной мембраной ядерной оболочки. Это предполагает важную роль ретикулона 4 в сборке новых фрагментов ядерной оболочки. Эти данные опубликованы нами в 2007 г. в J. Struct. Biol. Поскольку этот белок принимает участие в развитии болезни Альцгеймера (показано, что он ингибирует рост аксонов в нервных клетках), то исследование функций этого белка представляет большой научный интерес



МОЙ АП

В. П. МЫЛЬНИКОВ

Посвящаю 100-летию со дня рождения моего учителя академика А. П. Окладникова

1969 г. Осень. Первая встреча, первые впечатления, первое фото

АП

*Из наших лет сплетаются века,
А из веков слагается эпоха.
Жизнь человеческая коротка,
В сравненьи с вечностью — невидимая кроха*

*Но в этой жизни каждый человек
Стремится след нетленный на земле оставить,
Прожить достойно свой короткий век,
И праведным трудом свои дела прославить.*

*Не всем Надежда светит свысока,
Не каждому и Счастье улыбнется.
Лишь тот, кто Будущее видит сквозь века,
В своей эпохе Гением зовется...*

*Вы к Прошлому заветный ключ нашли,
И в глубь веков маршруты проложили,
Чтоб мы по вашим вехам к цели шли,
И в Прошлом Будущее находили.*

2008 г.



МЫЛЬНИКОВ Владимир Павлович — доктор исторических наук, заведующий отделом музееведения Учреждения Российской академии наук Института археологии и этнографии СО РАН

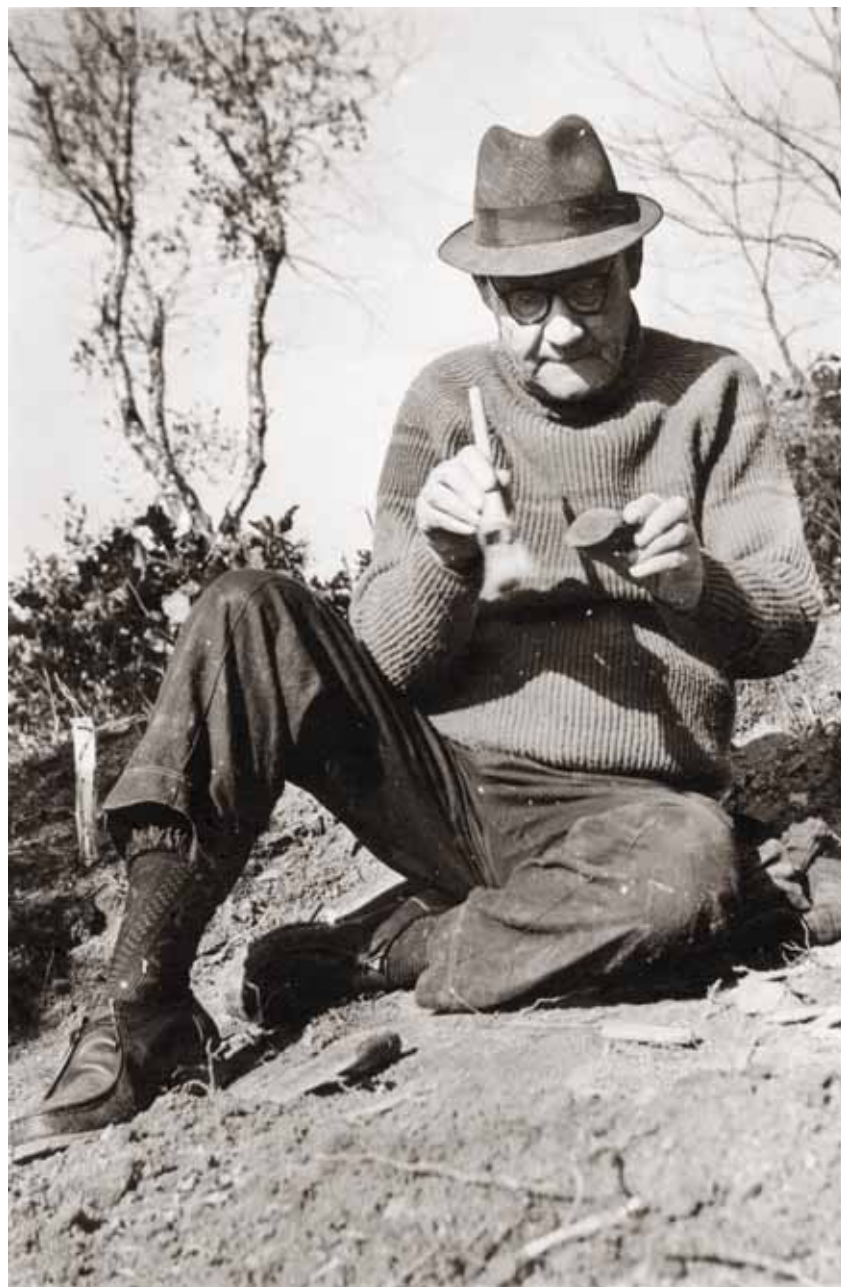


1970 г. Настроение великолепное!

1970 г. Дома в коттедже с верной спутницей жизни Верой Дмитриевной



Имя советского археолога Героя Социалистического Труда академика А. П. Окладникова в 60–70-е гг. прошлого столетия было хорошо известно не только в нашей стране, но и далеко за ее пределами. Считаю, что мне в жизни крупно повезло. В Институте истории, филологии и философии СО АН СССР, который он основал в 1965 г., я проработал с ним 12 лет. В экспедиционных отрядах, руководимых непосредственно им, мне посчастливилось побывать на многих археологических памятниках, ставших впоследствии классикой археологической науки. Горы и плоскогорья, степи и лесостепи, равнины и низменности Алтая, Западной и Восточной Сибири, Забайкалья и Прибайкалья, необозримые просторы Дальнего Востока — везде побывал Алексей Павлович, везде находил



1970 г. Дальний Восток. Приморье. Медвежья сопка, раскопки неолитического поселения. Очень интересная находка

1971 г. Монголия, пустыня Гоби. В поисках стоянок человека древнекаменного века. На заднем плане студент 5-го курса МГУ Д. Цэвээндорж, будущий директор Института археологии Академии наук Монголии

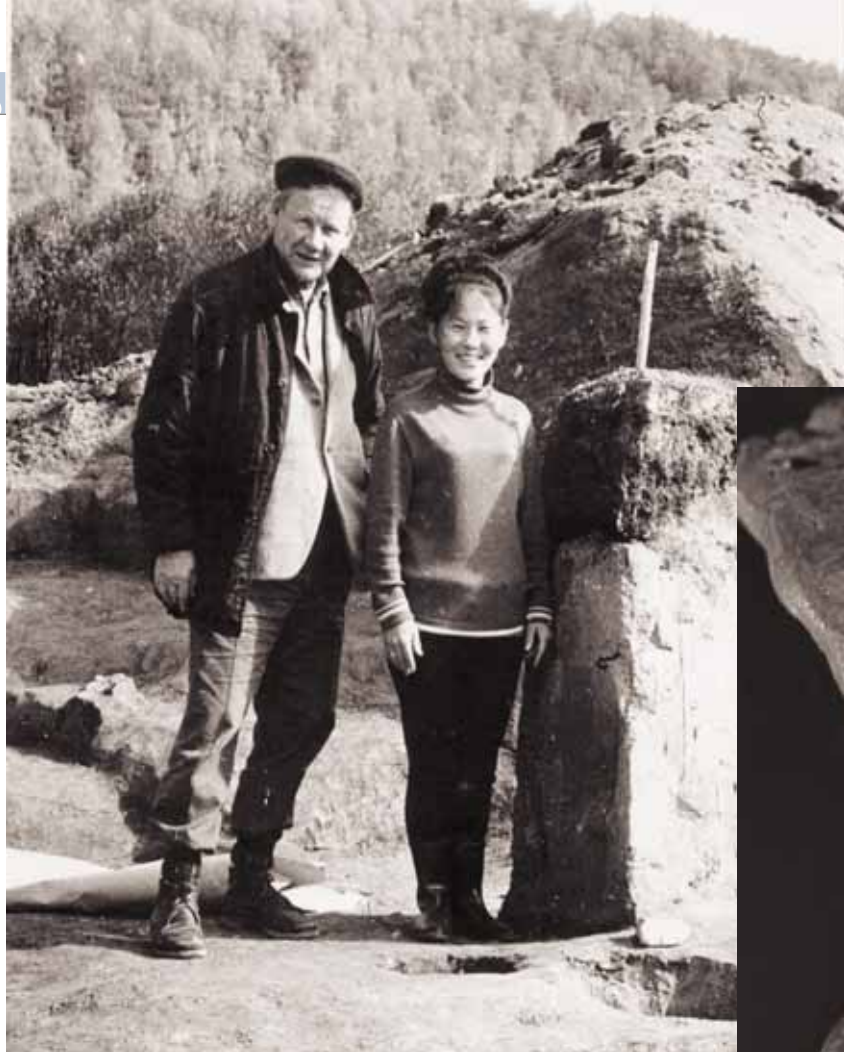


новые археологические памятники, раздвигая своими исследованиями историю Сибири и Дальнего Востока вширь и вглубь.

За глаза между собой все сотрудники нашего Института звали его просто А П.

В конце 60–70-х гг. по велению своей беспокойной «бродяжьей» души в любое время года он мог «сорваться» в поле, «сколотив» небольшой мобильный отряд. И все мы, кому выпадало счастье быть рядом с ним, уезжая «ненадолго, недельки на две в разведку», нередко возвращались домой поздней осенью, а иногда

и с началом зимы. Экспедиционная жизнь в те годы была, по выражению А П, «по-суворовски спартанской и по-солдатски простой». В экспедицию можно было уехать в тот же день, оформив командировку за полчаса и собрав немудреные пожитки. В поле жили по 5–6 человек в одной палатке, спали в мешках, часто просто на земле на голом брезенте или на травяной подстилке, покрытой брезентом. Готовили быстро и просто на костре или паяльной лампе, питались под открытым небом. Иногда, когда были «увлечены работой», перебивались «чайчиком».



1971 г. Осень, Дальний Восток. Амурская область, Комсомольский район, село Кондон, раскопки неолитического жилища. С местной красавицей — потомком знаменитой «Кондонской Нефертити»



Кондонская Нефертити (Венера). 5 тыс. лет до н.э.



1971 г. Осень. Дальний Восток, р. Амур, с. Сакачи-Алян, неолитические петроглифы на речных валунах. Лекция для нанайской девочки о наскальных рисунках



1972 г. Институт истории, филологии и философии СО АН СССР. У бронзового бюста своего «приемного неандертальского ребенка»



Открытие советского археолога

В горах Узбекистана в гроте Тешик-Таш археологическая экспедиция под руководством доктора исторических наук А. П. Окладникова обнаружила кости неандертальского человека и остатки его материальной культуры. Открытие явилось крупным вкладом в историческую науку, ибо до этой находки вовсе не были известны памятники материальной культуры древнего каменного века в Средней Азии. Научение истории Средней Азии ученые вынуждены были начинать с четвертого тысячелетия до нашей эры. Между тем, в Европе, в Малой Азии, в Индии давно были обнаружены остатки культуры первобытных людей, имеющие древность свыше 100 тысяч лет. Это дало почву для всякого рода антинаучных расистских построений буржуальных теоретиков. Исследования доктора исторических наук А. П. Окладникова полностью опровергли реакционные взгляды расистов. В гроте Тешик-Таш открыты остатки человеческой культуры, имеющие древность около 100 тысяч лет и относящиеся к первой половине древнего каменного века, к так называемой мустьерской эпохе палеолита.

Ленинградская Вечерний Ленинград Ленинград

16 МАР 1950

16 марта 1950 г. Тешик-Таш. Вырезка из газеты «Вечерний Ленинград», рассказывающая о находке неандертальского человека в горах Узбекистана А.П. Окладниковым. Внизу записка, написанная в 1938 г. в Узбекистане, во время находки в Тешик-Таше. Материалы из Санкт-Петербургского филиала Архива РАН (ПФА РАН)





В поле АП был неутомим и каждую минуту в действии. Вставал раньше всех и того, кто оказывался ближе, будил, ласково приговаривая: «Вставай, милый, смотри, какое утро чудесное. Так можно всю манну небесную проспять. Возьми лопатку. Пойдем до завтрака покопаем». Если замечал, что кто-то «снизил темп и замечтался», быстро находил для него подходящее занятие. Жизнь вокруг него кипела, бурлила, била ключом, гудела водоворотами. Он был в постоянном поиске. Ходил — руки за спину, нагнувшись вперед, поглядывая себе под ноги и обозревая окрестности, отыскивая на земле ведомые только ему следы далекого прошлого. Наравне со всеми копал лопатой, мастерски зачищал стенки раскопа совком и ножом, выявляя

1973 г. Монголия, Улан-Батор. Фото на память с отцом и сыном своего монгольского ученика Д. Доржа

1973 г. МНР. Бодак — праздник «козлодрание» в честь великого гостя



1974 г. Славное море — Священный Байкал. Бухта Саган-Заба, скала с древними рисунками. Слева направо стоят: водитель А. И. Логинов, аспирант Ю. П. Холюшкин, кинооператор студии ЗапСибКинохроника В. И. Пономарев, академик А. П. Окладников, начальник отряда м. н. с. И. В. Асеев, сидит старший лаборант В. П. Мыльников



1974 г. Озеро Байкал. Бухта Саган-Заба, древние рисунки на скале

стратиграфию. Найденный предмет осторожно «проявлял» кисточкой, внимательно изучал, рисовал и описывал в большом полевом дневнике — общей тетради. Когда было найдено много каменных артефактов (например, в Монголии — десятки тысяч), заставлял рисовать всех, учил этому ремеслу даже водителей. Самые ценные находки рисовал сам и доверял тому, кто в совершенстве овладел техникой передачи особенностей фактуры артефакта.

Насколько мне тогда виделось, АП был прост в общении, открыт и доступен всем. Его интересовали жизнь и быт каждого члена отряда. Он был одинаков и ровен со всеми и находил общий язык со школьниками и учителями, студентами и корифеями науки, пастухами и секретарями обкомов, пограничниками и солдатами, летчиками и моряками, рабочими и крестьянами. Все мы считали это человеческое качество АП обычным, само собой разумеющимся: большой ученый должен быть и большим человеком. Одевался в поле он очень просто: темно-синий или черный костюм рабочего-монтажника, хромовые





«... Еще в Нижнеудинске дошли до нас несколько сбивчивые рассказы о чуде и оригинале — сельском учителе. О единственном человеке, который может что-то сказать о петроглифах на Уде, даже имеет фотографии и рисунки, бывал в тамошних пещерах. ... Как стало видно сразу же, человек этот из тех, кто давно и навсегда охвачен чистой страстью к научным приключениям и открытиям... Пусть таких людей не понимают даже близкие. Пусть их увлечения идут во вред жизненному благополучию, домашнему уюту и спокойствию. Но они сверкают как камень-самоцвет на фоне повседневных дел и забот своими «чужацествами», своим непонятным для других и непрерывным беспокойством и душевным подъемом. И ничто уже не сможет свернуть их с этого пути. Таков был и этот человек с удивительной, такой же неожиданной, как он сам, фамилией — Пугачев!» (А.П. Окладников, *Открытие Сибири*)

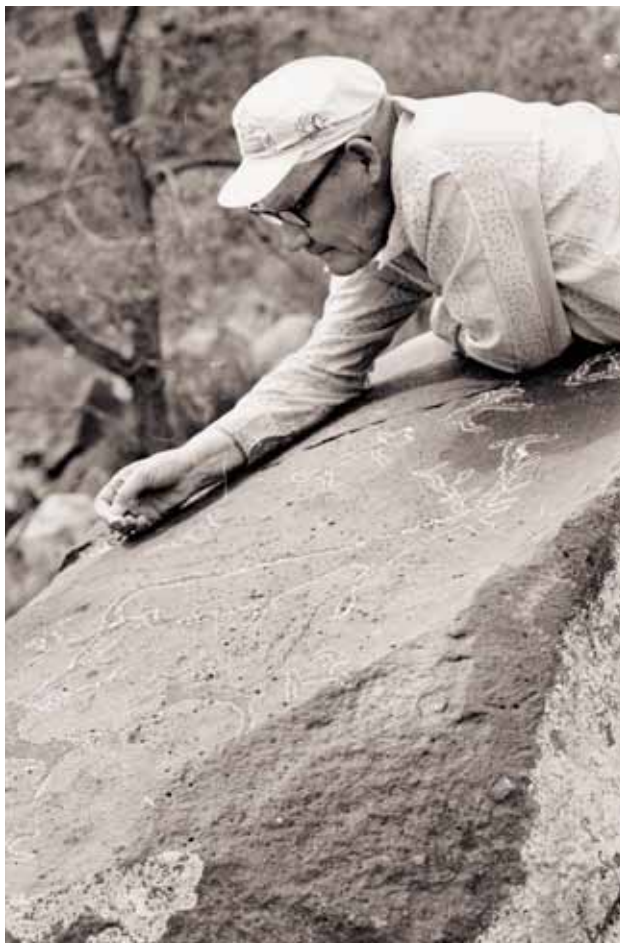
Февраль, 1975 г. Открытие Сибири. «Нижнеудинская эпопея». Богатырские пещеры. Изучать петроглифы — любимая работа

«... В феврале 1974 г. в село Худоелань, где я работал учителем, совсем неожиданно приехал известный ученый-археолог А. П. Окладников. В беседе он объяснил причину своего визита ко мне. В начале 1973 г. он прочел мою статью о Ярминских рисунках, написанную мною еще в 1965 г. Газету с этой статьей ему передал В. И. Рассадин — ученый-филолог. Изучающий тофский язык, он часто бывал в Тофаларии, и там мы с ним познакомились и подружились. А. П. Окладников командировал этим же летом в Нижнеудинск кандидата исторических наук А. Мазина, чтобы он скопировал рисунки и узнал, когда сюда можно организовать экспедицию. Он сделал все намеченное и выяснил, что до Ярмы можно добраться только зимой по льду реки Уды. И уже в начале следующего года А. П. Окладников осуществляет зимнюю экспедицию в Нижнеудинск к Ярминским петроглифам. А после ее завершения приезжает в Худоелань. После первых минут знакомства Алексей Павлович сразу расположил к себе своей мягкостью в обращении, уважительным, бережным отношением к людям. Вначале он

рассказал о своей работе, о своей поездке к Ярминским порогам, одобрительно отозвался о значении нашего открытия, а когда узнал, что в школе работает краеведческий кружок, то предложил организовать летом в долину реки Уды экспедицию — поискать еще наскальные рисунки, может быть даже древние стоянки. Я, конечно, согласился, тем более что Алексей Павлович обещал консультировать нас и дать методику поиска археологических объектов. ... Эта встреча была для меня особенно памятной. Как много я узнал нового об археологии, о наскальной живописи! А. П. Окладников рассказал о технике исполнения петроглифов древними художниками-охотниками и объяснил, какой смысл, какой мир идей и символов вкладывал древний художник в свои рисунки. Но самое главное: встреча заставила меня по-новому осмыслить значение моей поисковой устремленности, моей деятельности, на первый взгляд, никому не нужной; она вдохнула новые силы в интерес к окружающему миру, который уже стал постепенно затухать». (из воспоминаний М. И. Пугачева)



Февраль, 1975 г. Открытие Сибири. «Нижнеудинская эпопея». Богатырские пещеры. Рисунки на скалах. Герои зимней экспедиции: слева направо первый ряд: два водителя райкома КПСС, А. К. Конопацкий, А. И. Мазин; второй ряд: секретарь райкома В. Сенников, В. И. Молодин, А. П. Окладников, проводник «дядя Костя»



1978 г. Монголия. Долина реки Чулутын-Гол. Калькирование петроглифов

«Не будет преувеличением сказать, что это окно в исчезнувший мир, через которое можно увидеть древнюю культуру человека в самых сокровенных и интимных ее проявлениях. Неудивительно поэтому, что к петроглифам постоянно обращались и обращаются все, кто хочет заглянуть как бы в самую душу древнего человека, понять его мировоззрение, его искусство — эстетические представления и этические нормы, его взгляды на себя самого и на окружающий мир — Вселенную», — писал в одной из своих работ о значении древней живописи А. П. Окладников

сапоги, старая шляпа или кепочка с длинным козырьком. Знакомые и близкие называли его «академик в сапогах».

За долгую жизнь у АП было много учеников и последователей, которые в разное время работали бок о бок с ним и учились премудростям жизни и археологии. Каждый из них может рассказать очень многое и нарисовать яркими красками свой портрет учителя. Я один из тех, кто последние 12 лет его жизни почти ежедневно общался с ним и в поле, и дома. Иногда с помощью фотоаппарата пытался остановить мгновение, запечатлеть на пленку и сохранить для истории застывшие изображения ученого и человека — Алексея Павловича Окладникова. Фотографировать его было очень сложно. Когда он замечал направленный на него объектив фотокамеры, тут же махал рукой и говорил: «Вовик, не порти пленку». Так что мгновения эти были редки...

Каким получился мой АП — судите сами.

1978 г. Монголия. Чулутын-Гол. Какое счастье находить что-то новое на старых скалах

В публикации использованы фото из архива В. П. Мыльникова и материалы из Санкт-Петербургского филиала Архива РАН.

1976 г. Иркутская область. Верховья р. Лена. Шишкинские скалы. «Здесь начиналась моя археология»



1976 г. Иркутская область. Верховья р. Лена. Шишкинские скалы. С местными ребятами-краеведами. «Кто знает, а вдруг из них вырастет второй Окладников?»



В МОНГОЛИЮ ЗА «РУССКИМ ЗАТМЕНИЕМ»



Экспедиция иркутских ученых в ожидании полного затмения. Фото М. Антипина

1 августа 2008 г. состоялось полное солнечное затмение, которое во всем мире назвали «русским». Полоса, в пределах которой можно было наблюдать это уникальное явление, проходила с севера на юг через Западную Сибирь, захватив миллионный Новосибирск. Сюда устремились наблюдатели — профессионалы и любители со всего мира. Здесь же работала представительная экспедиция иркутского Института солнечно-земной физики СО РАН. Однако экспедиция астрономической обсерватории Иркутского государственного университета решила наблюдать «русское затмение» вдали от российских границ. Экспедиция «IRKUTSK-GOBY-ECLIPSE-2008» (Иркутск-Гоби-Эклипс-2008) отправилась на внедорожниках в Юго-Западную Монголию...



Эта экспедиция «охотников за затмениями» вышла нестандартной. Полоса полного солнечного затмения началась в Канаде, после чего тень Луны пробежала по Северному Ледовитому океану, задев Гренландию, и вступила на территорию России, двигаясь по территории Западной Сибири с севера на юг.

В полосу затмения попали города Надым, Нижневартовск, Горно-Алтайск, Бийск. Но столицей затмения, которое в мировых СМИ назвали «русским», стал, конечно, Новосибирск. Сюда со всего мира съехалось огромное число наблюдателей — профессионалов и любителей. Номера гостиниц здесь были забронированы уже давно. Помимо астрономов-солнечников, которые выполняли профессиональные наблюдения солнечной короны, приехали также и фанаты затмений, которые традиционно ездят за ними по всему миру.

В Новосибирске успешно отработала представительная экспедиция иркутского Института солнечно-земной физики СО РАН во главе с заместителем директора, чл.-кор. РАН, д. ф.-м. н. Виктором Григорьевым. Ученые привезли с собой специально подготовленные комплекты научной аппаратуры, а на следующий день после затмения приняли участие в научной конференции в Новосибирском госуниверситете.

Вторая же экспедиция иркутских ученых, которую инициировала астрономическая обсерватория Иркутского государственного университета, направилась в самый дальний «угол» страны — в Юго-Западную Монголию. Решение было непростым, ведь добраться до тех мест, где по пустыне Гоби проходила полоса полного затмения, можно было только либо на вертолете, либо на автомобилях-внедорожниках. Первый вариант отпал из-за непомерных технических и финансовых сложностей. Второй был не менее сложен, но все же реализуем.



ЯЗЕВ Сергей Арктурович — кандидат физико-математических наук, директор астрономической обсерватории Иркутского государственного университета, старший научный сотрудник Института солнечно-земной физики СО РАН, член правления международного астрономического общества, научный руководитель экспедиции «IRKUTSK-GOBY-ECLIPSE-2008». Автор и соавтор более 120 научных и научно-популярных работ и учебных пособий



У путешественника по Монголии доминирует ощущение бескрайнего простора.
Фото Д. Дмитриева

Монголия — это верблюды и лошади, хищные птицы и серые цапли, огромные стада овец и коз, неизменные юрты и неожиданные признаки современности: мобильные телефоны, спутниковые тарелки и панели солнечных батарей около большинства юрт

Маршрут выглядел нешуточным: предстояло пройти почти 5 тыс. километров! Автомобили требовали специальной и дорогостоящей подготовки: от приобретения специальной резины и «подъема» машин до комплектации рациями и основательными наборами инструментов, материалов и запчастей для возможного ремонта в пути. Пришлось устанавливать дополнительные баки, так как предстояло передвигаться в таких местах, где нет не только дорог, но и автозаправочных станций. Понятно, что никакая научная организация не рискнула бы командировать своих сотрудников на автомашинах в другую страну по маршруту со столь экстремальными характеристиками. Экспедиция могла состояться только благодаря энтузиазму ее участников.

Всего в экспедиции приняли участие 12 человек. Четверо из них решились ехать на личных автомобилях.

В этом проекте сошлись интересы разных людей и структур. Сотрудники астрономической обсерватории ИГУ Сергей Язев, Дмитрий Семенов, Анатолий Арсентьев и Константин Кравченко планировали выполнить цикл научных наблюдений за солнечной короной во время затмения. Менеджеры фирм Павел Никифоров и Сергей Евчик (в прошлом члены Иркутского астрономического клуба) мечтали увидеть очередное полное затмение. Опытному «джиперу» Максиму Антипину путешествие обещало массу впечатлений в новой стране. Рассчитывали пополнить свои коллекции уникальными фотоснимками фотожурналисты Евгений Козырев и Дмитрий Дмитриев. Восточно-Сибирская студия кинохроники направила в состав экспедиции оператора Анатолия Мельникова.

В итоге в одной точке пересеклись интересы ученых, представителей СМИ, нескольких коммерческих структур и путешественников. Проектом заинтересовались не только региональные средства массовой информации (телекомпания «Аист» и газета «Восточно-Сибирская правда», предоставившие экспедиции информационную поддержку), но и выступившие в качестве спонсоров бизнес-структуры (туркомпания «Ислэнд», фирмы «Вудтэкс», «Фильтр», «Гармин», «Технотест»).

Но все-таки следует подчеркнуть, что в основу проекта, безусловно, легла заинтересованность хозяев четырех автомобилей-внедорожников, решившихся на непростую эпопею. Целенаправленные совместные усилия всех заинтересованных лиц и организаций привели к тому, что этот проект состоялся.

ПУТЯМИ ЧИНГИСХАНА

Вечером 24 июля в путь из Иркутска отправились первые две машины: «Тойота Прадо» М. Антипина и «Ниссан Сафари» Д. Дмитриева. В состав экипажей входили жены пилотов — Ульяна Антипина и Елена



Фото М. Антипина



Удивительно разнообразными оказались монгольские ландшафты: причудливые силуэты гор, барханы, пустыня, полупустыня, степь... Сухая растрескавшаяся земля и в то же время полные речки, через которые машины порой приходилось перетаскивать на буксире, чтобы вода не залила двигатель. На обратном пути попадались и альпийские пейзажи с лесами и горными речками в узких горных ущельях; соленые озера с набегаящими морскими волнами... В общем, описывать увиденное словами — дело бессмысленное: все это просто надо увидеть своими глазами

Фото М. Антипина



Солнечная корона во время полного затмения 1 августа 2008 г. Фото Д. Дмитриева

Наблюдения за затмением показали: Солнце опять подбрасывает сюрпризы. В эпоху затянувшегося минимума цикла солнечной активности корона оказалась хотя и не очень протяженной (как и ожидалось), но существенно неоднородной (что не соответствует существующим представлениям). Это означает, что теория снова нуждается в модификации

Дмитриева, сотрудники обсерватории ИГУ А. Арсентьев и С. Язев, а также фотожурналист Е. Козырев.

Мы ехали всю ночь и утром 25 июля прибыли в Кяхту на границу с Монголией. К вечеру машины достигли Улан-Батора. Заместитель директора Центра астрономии и геофизики АН Монголии Демберел разместил членов экспедиции в гостинице, где к ним присоединился оператор Восточно-Сибирской студии кинохроники А. Мельников, накануне прилетевший из Иркутска.

Наутро предстояло начать путь к месту наблюдений, расположенному почти в 1700 км от Улан-Батора — на самом юго-западе Монголии. Туда несколько ранее уже отправились монгольские астрономы и их словацкие коллеги. С нами в путь отправился УАЗик с заместителем директора Института земной коры СО РАН, д. г.-м. н. Кириллом Леви и его коллегами.

Дороги Монголии поразили путешественников. Широкая асфальтированная трасса — «Дорога тысячелетия» — быстро превратилась во множество обычных проселочных дорог, ветвящихся среди степи.

К этому времени из Иркутска выдвинулся второй отряд: «Сузуки Эскудо» координатора экспедиции Д. Семенова и «Исудзу Му» П. Никифорова. С ними ехали член астроклуба С. Евчик и сотрудник обсерватории ИГУ К. Кравченко. В Улан-Баторе к ним присоединился монгольский проводник Гана. Проводник, кстати говоря, оказался очень нестандартным: скромный, интеллигентный человек, грамотный физик, специалист по элементарным частицам, работавший в Дубне. Надо сказать, что все монголы, повстречавшиеся нам, были чрезвычайно доброжелательны и помогали, как могли...

Второй отряд, догоняя первый, двигался практически круглосуточно. Через два дня экспедиция воссоединилась в районе деревеньки Шарга и дальше двигалась единой колонной.

Те участники экспедиции, которые мечтали о монгольской экзотике, получили ее с избытком. Сильное впечатление оставила ночевка в каменистой пустыне Гоби — с пронизывающим ветром, под великолепным куполом звездного неба.

Удивительно разнообразными оказались монгольские ландшафты: причудливые силуэты гор и песчаные барханы, пустыни и полупустыни, степи... Сухая растрескавшаяся земля и в то же время полноводные речки, через которые приходилось перетаскивать машины на буксире, чтобы не залить водой двигатель. На обратном пути нам попадались и альпийские пейзажи с лесами, горными речками в узких горных ущельях, и соленые озера с набегающими «морскими» волнами. В общем описывать увиденное словами — дело бессмысленное...

Запомнились верблюды и лошади, хищные птицы и серые цапли, огромные стада овец и коз, неизменные

юрты, прекрасно вписывающиеся в любой пейзаж, и неожиданные признаки современности: мобильные телефоны, спутниковые тарелки и панели солнечных батарей около большинства юрт...

Наша колонна преодолела высокогорный (2600 м над уровнем моря) перевал в горном массиве Монгольского Алтая и спустилась в долину. В заданную точку близ небольшого городка Алтай на самом юго-западе Монголии (на карте мы нашли не менее шести различных Алтаев), прибыли днем 31 июля, за сутки до затмения. Лагерь разбили в четырехстах метрах от лагеря монгольских астрономов, работавших под руководством нашего хорошего знакомого и коллеги Батмунха.

МОНГОЛЬСКАЯ КОРОНА

Погода не подвела. Еще за пару дней до затмения небо хмурилось, по горизонту гуляли мрачные дожди. Но один из монголов уверенно сказал:

- Завтра будет хорошая погода!
- Почему? — спросили мы.
- Потому что вчера была плохая! — последовал ответ.

Освещение становилось каким-то непривычным, нереальным... Четкими и контрастными стали тени. Заметно потемнело. Уже можно было следить не через фильтр, как становится все более тонким серпик Солнца, на которое неумолимо наползал черный диск Луны.

И вот, наконец, как бриллиант блеснул в последний раз краешек светила, и Солнце окончательно скрылось. Воцарилась тьма, в которой ярко засияли возле померкшего светила Меркурий и Венера

В день затмения небо было ясным. С утра мы начали метеонаблюдения, фиксируя изменения температуры, влажности и давления. Днем термометр показал 40 с лишним градусов — обычное дело для пустыни.

... Сначала потемнели горы на северо-западе. Мы видели, как поочередно темнели далекие облака у горизонта. Затем стала темно-синей вся северная часть неба...

Освещение становилось каким-то непривычным, нереальным. Заметно потемнело. Уже можно было следить не через фильтр, как становится все более тонким серпик Солнца, на которое неумолимо наползал черный диск Луны.



Затмение начинается!
Фото А. Арсентьева



Трудный путь домой. Фото С. Язева

И вот, наконец, блеснул в последний раз, как бриллиант, краешек светила, и Солнце окончательно скрылось. Воцарилась тьма, в которой ярко засияли Меркурий и Венера.

По всему горизонту засветилась желтая заря. Вокруг идеально ровного черного диска Луны вспыхнула седым серебристым цветом солнечная корона, в которой просматривались в виде отдельных прядей *корональные стримеры*. Они были не очень протяженными — не такими, как во время затмения 29 марта 2006 г. На северо-западном краю отчетливо выделялся малиновый выступ — *вздымающийся в корону хромосферный протуберанец*.

... Все прошло как одно мгновение. Через две минуты ослепительный сполох появился на противоположной стороне черного диска: Солнце снова показалось из-за Луны. Полная фаза затмения закончилась.

Мы все успели. Д. Дмитриев выполнил запланированную серию снимков с разными выдержками при помощи своей профессиональной фотокамеры с длиннофокусным объективом. Камеру мы установили на астрономический штатив, который автоматически поворачи-

вался вслед за движением Солнца. Успешно отработали все фото- и видеокамеры. Не помешал даже таинственный отказ незадолго до начала затмения нашего испытанного электрогенератора: двигатель часового механизма астрономического штатива был переключен к прикуривателю «Сузуки», и японская техника не подвела.

Обработка полученных данных будет проводиться совместно со специалистами Института солнечно-земной физики, которые успешно выполнили свои наблюдения в окрестностях Новосибирска.

... А вечером был «прием» в монгольском лагере. Горел огромный костер высотой в два человеческих роста, вокруг которого собрались наблюдатели затмения — монголы, русские, словаки. Счастливым (наблюдения прошли успешно!) Батмунх переходил от одного к другому, наливая всем по очереди. Звучали приветствия на разных языках. И было очень приятно услышать здравницы в адрес России и предложение монгольских и словацких коллег спеть всем вместе «самую известную песню в мире» — «Подмосковные вечера»...

ПРЕОДОЛЕТЬ И ВЕРНУТЬСЯ

Обратный путь, как и ожидалось, оказался трудным. Колонна двинулась по более короткой дороге, заканчивающейся вблизи оз. Хубсугул. Но техника начала давать сбои.

Сначала сломалась рессора у «Исудзу». Я до сих пор не представляю, как поврежденной машине удалось пройти почти 300 км до города Ховд, где местные умельцы заменили две рессоры (сломанную и вторую, тоже надломленную) на рессоры от грузовика.

На камнях в глубокой колее напрочь оторвало выхлопную трубу у «Сузуки»; потребовалась и замена амортизатора. «Убила» задние амортизаторы флагманская машина, которая шла всю экспедицию под развернутым российским флагом.

Более чем за 100 км до поселка Ханх вблизи российско-монгольской границы остановился тяжело груженный «Ниссан». Завести его так и не удалось. Тащить вышедшую из строя машину по перевалам на буксире по раскисшей глинистой колее вдоль восточного берега Хубсугула не могла ни одна из «оставшихся в живых» машин. Выхода не было: супруги Дмитриевы и Е. Козырев остались на месте аварии возле автомобиля, пытаясь найти причину неисправности.

Единственный выход из положения — найти грузовик или трактор, который смог бы вытащить «Ниссан». Три автомобиля двинулись в дальнейший путь. Тем временем погода, похоже, исчерпала свой ресурс и окончательно испортилась (воцарились низкая облачность и дождь, а температура упала до 6° С). Внедорожники упрямо буксовали в грязи на скользких склонах перевала, медленно продвигаясь вперед. Скорость не превышала скорости пешехода. Так прошла ночь.

...Ближе к полудню мы достигли стана монгольских дорожников. Д. Семенову и П. Никифорову стоило больших трудов разъяснить им нашу проблему. Однако монголы поняли и стали готовить свой «ГАЗ-66» на вырубку «Ниссану».

Кто-то должен был возвращаться вместе с грузовиком. Разумеется, это должен был быть кто-то из числа не не водителей и не женщин. Ехать никому не хотелось, но интересы экспедиции должны были встать выше личных и корпоративных. Пять человек бросили жребий — и вместе с монголами на помощь нашим товарищам отправился кинооператор Т. Мельников.

...Оставшийся путь до Ханха был также нелегким. Последнюю из рек, преграждавших путь, форсировали на буксире: флагманская «Тойота Прадо» М. Антипина перетащила на тросе «Сузуки» и «Исудзу». Надо сказать, что «Сузуки» при этом сильно напоминал подводную лодку.

...Буксировка «Ниссана» через перевалы Хубсугула заняла почти двое суток. Мы уже договорились, что в случае необходимости грузовик астрофизиков расположенной неподалеку Саянской обсерватории Института солнечно-земной физики увезет аварийный автомобиль от границы на базу обсерватории, откуда было бы проще эвакуировать экипаж. Но, к счастью, все обошлось: в Ханхе ребятам все-таки удалось завести машину. Им пришлось двое суток дожидаться понедельника — пограничный пост Монды в выходные дни не работает. Отстояв долгую очередь, «Ниссан» пересек границу 11 августа и поздним вечером прибыл в Иркутск.

От начала экспедиции — отбытия первого отряда вечером 24 июля до возвращения последней машины — прошло 18 суток.

ПОЛЕЗНЫЙ ОПЫТ

В монгольском городе Ховд К. Кравченко заглянул в Интернет и нашел там некий комментарий к сообщению об успешных наблюдениях затмения в Новосибирске нашими коллегами из Института солнечно-земной физики. Смысл комментария заключался в следующем: дескать, люди занимаются за государственный счет никому не нужными вещами.

Думается, читателей журнала «НАУКА из первых рук» нет необходимости убеждать в важности фунда-

Участники экспедиции, мечтавшие о монгольской экзотике, получили ее сполна. Незабываемое впечатление оставила ночевка в каменистой пустыне Гоби — с пронизывающим ветром, под великолепным куполом звездного неба...

ментальных исследований. Наблюдения за прошедшим затемнением показали: Солнце таит еще много сюрпризов. Так, в эпоху затянувшегося минимума цикла солнечной активности корона светила оказалась хотя и не очень протяженной (как и ожидалось), но существенно неоднородной (что не соответствует нашим современным представлениям). Это означает, что теория снова нуждается в модификации. Так что затмения будут и впредь наблюдаться учеными — ведь с каждым новым затмением они будут получать и новую информацию.

А вот стоило ли ехать в Монголию для наблюдения за солнечной короной? Не проще ли было присоединиться к многотысячной армии новосибирских наблюдателей?

Думается, что стоило. Климат Западной Сибири внушал серьезные опасения по поводу успешности наблюдений. И монгольская миссия была своеобразной подстраховкой на случай плохой погоды. К счастью, все сложилось идеально: и в Новосибирске, и в Монголии наблюдения состоялись. Обе иркутские экспедиции получили интересную информацию, причем наши данные хорошо дополняют друг друга.

Экспедиция «IRKUTSK-GOBY-ECLIPSE-2008» продемонстрировала, что при грамотной организации дела возможны инвестиции бизнес-структур и СМИ в чисто научные проекты. Именно привлечение подобных средств сделало наш проект реальностью, поскольку Сибирское отделение РАН по многим причинам вряд ли смогло бы обеспечить его выполнение.

В результате проведения экспедиции получен важный научный материал, причем без каких-либо вложений со стороны РАН. И организация этой экспедиции может служить примером нестандартных путей, по которым, наверное, также может двигаться развитие науки.

Что касается трудностей в пути, то они являются неизбежными спутниками «джиперских» маршрутов. И без них многим путешественникам жизнь кажется пресной...

Никто из участников монгольской экспедиции не жалеет, что принял в ней участие. Я уверен, что великолепные картины природы Монголии и грандиозное зрелище полного солнечного затмения запомнятся нашей крепко подружившейся команде навсегда.

P.S. Очередное полное солнечное затмение будет наблюдаться 22 июля 2009 г. на юге Китая...



Байкальский шторм. Фото В. Короткоручко