

**И**нститут биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, организованный в 1965 г. в Центре биологических исследований Академии наук СССР в Пущино, является ведущим российским институтом микробиологического и биотехнологического направления.

Первым директором Института был академик Н.Д. Иерусалимский, затем академик Г.К. Скрыбин, с 1989 г. по настоящее время – чл. - корр. РАН А.М. Боронин. Институт стал местом становления отечественных научных школ Н.Д. Иерусалимского, Г.К. Скрыбина, А.А. Баева, М.В. Иванова, И.С. Кулаева, А.М. Боронина, Л.В. Калакуцкого. С их именами связаны крупные этапы развития микробиологии, молекулярной биологии и генетики, а также биотехнологии в нашей стране. В настоящее время руководство лабораториями и отдельными направлениями осуществляют видные ученые, имеющие мировое признание.

Институт создавался и ныне функционирует как многопрофильное научное учреждение, основные исследования которого посвящены изучению биохимии, физиологии, молекулярной биологии, генетики и биосферной роли микроорганизмов. Особенностью Института является направленность фундаментальных исследований на получение результатов как основы новых биотехнологических процессов. Именно новые знания о механизмах функционирования и регуляции биохимических, физиологических, молекулярно-биологических и генетических систем позволили Институту разработать современные биотехнологии получения микробных препаратов для медицины, сельского хозяйства, восстановления и защиты окружающей среды.

### **Основные направления исследований Института**

- Биологическое разнообразие
- Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов
- Структура и функции биомолекул и надмолекулярных комплексов, протеомика, биокатализ
- Биотехнология

### **Основные темы**

- Поддержание в нарастающем объеме Всероссийской коллекции микроорганизмов
- Молекулярно-генетические основы организации и функционирования микробных клеток
- Микробный метаболизм и его регуляция
- Физиология роста микробных клеток
- Биология плазмид
- Генетическая энзимология
- Биосинтез биологически активных соединений и технологии их получения
- Метаболизм и деградация ксенобиотиков
- Биотехнология защиты окружающей среды и ремедиации
- Микробиологические средства защиты растений
- Биомолекулярная электроника (биосенсоры)

## Кадровый состав и структура

Структуру Института составляют научные, научно-технические и научно-вспомогательные подразделения, учебно-образовательный центр, а также аппарат управления. В состав научных подразделений входит 3 отдела, 12 лабораторий, 1 ВНТК и 1 Центр.

Общая численность работающих в институте около 420 человек, в том числе 156 научных сотрудников, из них 2 члена-корреспондента РАН, 22 доктора и 107 кандидатов наук. В аспирантуре обучаются аспиранты РАН и Пущинского государственного естественно-научного института (Учебный центр микробиологии и биотехнологии).

В состав Института на правах отделов входят Всероссийская коллекция микроорганизмов (ВКМ) и Опытно-технологическая установка (ОТУ), имеющие статус уникальных установок РАН.

ОТУ является уникальной по совокупности параметров базой для разработки широкого спектра биотехнологий для промышленного получения препаратов на основе микробиологического синтеза. Включает три основных участка: ферментации, предварительной очистки препаратов и заключительной химической очистки, оснащенные отечественным и импортным оборудованием. Основные задачи – масштабирование лабораторных разработок с целью создания экономически перспективных и экологически безопасных опытно-промышленных технологических регламентов производства продуктов микробного синтеза: ферментов, белков, физиологически активных пептидов и вторичных метаболитов.

Основное направление деятельности ВКМ – изучение микробного разнообразия, в том числе выделение и описание новых видов и родов микроорганизмов. Поддерживается в нарастающем объеме и сохраняется коллекция микроорганизмов (более 20 тысяч культур немедицинского профиля), пополняется рабочая коллекция микроорганизмов, используемых в биотехнологических разработках. Подготовлен Сводный каталог микроорганизмов (бактерии, грибы, дрожжи, водоросли), поддерживаемых в 12 российских коллекциях в формате электронных книг. Коллекция признана в качестве Международного органа по депонированию как наиболее крупная микробиологическая коллекция России не медицинского профиля.

С использованием разработок ВКМ ИБФМ РАН и рекомендаций Организации по экономическому сотрудничеству и развитию предложена концепция организации и функционирования первого в России Биологического ресурсного центра. Реализован ряд мероприятий и современных технологий, способствующих обеспечению гарантированного сохранения фонда, контроля аутентичности объектов, точности идентификации, стандартизации операционных процедур и информационного сопровождения объектов хранения.

В настоящее время усилия направлены на разработку информационных ресурсов ВКМ и их интеграцию с базами данных и сетями других коллекций России и мира, а также организационные мероприятия на правительственном уровне по созданию на базе ВКМ Биологического ресурсного центра (БРЦ) международного уровня.

В рамках выполнения задач Комплексной программы развития биотехнологий в РФ на период до 2020 г. и в соответствии с рекомендациями Организации по экономическому сотрудничеству и развитию (ОЭСР) для БРЦ разработаны «Концепция развития инфраструктуры в сфере генетических ресурсов непатогенных микроорганизмов» и анкета для осуществления инвентаризации Российских микробиологических коллекций, их последующей категоризации и создания Национальных биоресурсных центров на основе крупнейших коллекций, фонды и результаты деятельности которых востребованы или могут быть востребованы в интересах развития современной биотехнологии.

### **Образовательная деятельность**

Институт является научной и учебной базой Пушкинского государственного естественно-научного института. Создан и функционирует Учебный и научно-методический центр повышения квалификации и переподготовки кадров. В лабораториях Института выполняют курсовые и дипломные работы студенты из многих региональных ВУЗов. Институт ведет подготовку аспирантов РАН.

Важнейшие достижения Института основополагающие работы в области генетической инженерии микроорганизмов, начатые в ИБФМ в 1972 г. и положившие начало исследованиям в данном направлении в России; организация Всероссийской коллекции микроорганизмов, крупнейшей в России и странах СНГ и имеющей мировое значение; создание ряда биотехнологических разработок для медицины, сельского хозяйства, охраны и восстановления окружающей среды, основой для которых явились результаты фундаментальных исследований в области биохимии, физиологии, генно-инженерных и молекулярно-биологических исследований микроорганизмов.

На разработки ИБФМ получено более 380 патентов СССР и РФ, 80 патентов зарубежных стран. Результаты работ отражены в более чем 7300 публикациях в отечественных и зарубежных изданиях. Разработки института награждены более 50 медалями и дипломами Российских и международных выставок.

### **Международная деятельность**

В последние годы Институт сотрудничает с 25 организациями (университеты, компании и т.п.) в 30 странах мира. Получено более 20 международных грантов для научной работы, а также 17 грантов для участия в международных симпозиумах, конгрессах, 15 сотрудников участвуют в деятельности международных организаций и редколлегии международных журналов. По заказу иностранных организаций выполнялись работы по 5 контрактам и договорам.



*Заведующая – доктор биологических наук Людмила Ивановна Евтушенко*

Отдел «Всероссийская коллекция микроорганизмов» создан в 1980 году – в связи с решением Президиума АН СССР о передислокации Всесоюзной коллекции микроорганизмов в ИБФМ АН СССР из Института микробиологии АН СССР.

С момента создания и до 2003 г. отдел возглавлял член-корр. РАН Лев Владимирович Калакуцкий, ныне Советник РАН и научный руководитель отдела ВКМ. С 2003 г. отделом руководит Людмила Ивановна Евтушенко.

Характер и направление деятельности ВКМ как центра сбора, изучения, поддержания и предоставления широкого спектра микроорганизмов и информации о них для научных, образовательных и производственных организаций определены Постановлениями Президиума АН СССР (№ 942, 1980 г.) и Президиума РАН (№ 233, 2003 г.).

- ВКМ – коллекция национального значения (Постановление Правительства РФ № 725-47 от 24.06.96), признанный на международном уровне центр депонирования типовых штаммов вновь описываемых видов микроорганизмов.
- С 1987 года ВКМ выполняет функции Международного органа по депонированию микроорганизмов в рамках обязательств страны по Будапештскому договору о взаимном признании депонирования для целей патентной процедуры.
- Имеет статус Уникальной научной установки и Центра коллективного пользования в системе современной исследовательской инфраструктуры Российской Федерации.
- Коллективный член Европейской организации коллекций культур (ЕССО) и Всемирной федерации коллекций культур (WFCC).



*член-корреспондент РАН Лев Владимирович Калакуцкий*

## Структура и состав отдела.

Отдел ВКМ включает две лаборатории и пять секторов:

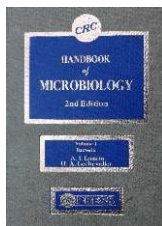
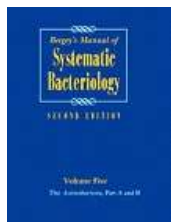
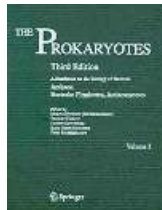
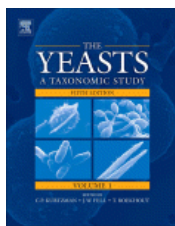
- Лаборатория анаэробных микроорганизмов (рук. к.б.н. *Виктория Артуровна Щербакова*)
- Лаборатория мицелиальных грибов (рук. д.б.н. *Светлана Михайловна Озерская*)
- Сектор актиномицетов (рук. д.б.н. *Людмила Ивановна Евтушенко*)
- Сектор бактерий (рук. к.б.н. *Екатерина Борисовна Кудряшова*)
- Сектор дрожжевых грибов (рук. д.б.н. *Владислав Иванович Голубев*)
- Сектор консервации микроорганизмов (рук. д.б.н. *Евгений Октябрьнович Пучков*)
- Сектор информации и координации (рук. к.б.н. *Олег Сергеевич Ступарь*)

В составе отдела 50 сотрудников, в их числе член-корр. РАН, 4 доктора наук, 19 кандидатов наук, 17 специалистов с высшим образованием, высоко квалифицированный технический персонал с многолетним опытом работы.

Члены коллектива являются авторами и соавторами многочисленных научных публикаций в российских и зарубежных изданиях статей, обзоров и научно-методических руководств по микробиологии и коллекционному делу.



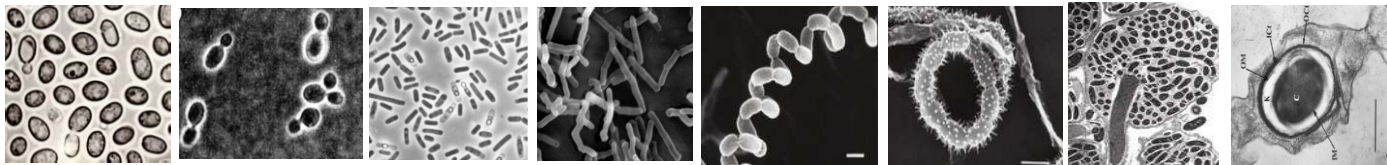
В числе публикаций последних лет более 20 глав монографического характера в составе «The Prokaryotes», «Bergey's Manual of Systematic Bacteriology» (известного в стране и мире как «Определитель Берги»), «The Yeasts, a Taxonomic Study» и ряде других.



Специалисты ВКМ избирались и работали в разные периоды времени в российских и международных профессиональных организациях: в качестве Президента Европейской организации коллекций культур (Л.В. Калакуцкий), в составе Исполкома Всемирной федерации коллекций культур (О.С. Ступарь) и Подкомитетов по таксономии Международного комитета по систематике прокариот (Л.И. Евтушенко), в комиссиях экспертов ОЭСР по вопросам доступа к генетическим ресурсам (Л.В. Калакуцкий), группах разработчиков Глобального (мирового) каталога микроорганизмов и единой информационной системы микробных БРЦ Европы (А.Н. Василенко, С.М. Озерская), а также в составах редколлегий ряда ведущих российских и зарубежных изданий (Микробиология, Успехи современной биологии, Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова, Проблемы медицинской микологии, International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, FEMS Microbiology Reviews, FEMS Microbiology Letters, Frontiers in Evolutionary and Genomic Microbiology и ряде других).

## Фонд ВКМ

ВКМ – крупнейшая микробная коллекция страны по показателю разнообразия фонда и одна из наиболее крупных по общей численности (около 20000 штаммов); включает представителей всех основных надцарств, в их числе типовые штаммы видов, объекты интеллектуальной собственности, депонированные в ВКМ в связи с патентной процедурой, а также другие организмы с уникальными свойствами и биотехнологическим потенциалом. Входит в первую десятку коллекций мира по видовому разнообразию грибов, дрожжей и актинобактерий.



## Основные информационные ресурсы ВКМ

- Создание информационных ресурсов и информационное обеспечение объектов хранения является важным направлением деятельности ВКМ. Одним из ранних продуктов этой деятельности было создание Единого электронного каталога 17 российских коллекций. Современная каталожная база данных ВКМ интегрирована в международную систему Straininfo и Глобальный электронный каталог микроорганизмов ([gcm.wfcc.info/](http://gcm.wfcc.info/)).
- Уникальная информационно-справочная система FungalDC, интегрированная с основными информационными ресурсами мира по грибам (WDCM, GenBank, Index Fungorum, MycoBank, StrainInfo), обеспечивает доступ к разноплановой информации (систематика, экология, биотехнология, биобезопасность и др.) по различным видам грибов и позволяет, в частности, проводить оценку степени изученности грибных таксонов молекулярно-генетическими методами.
- В базе данных «Метаболиты мицелиальных грибов, перспективные для биотехнологии», созданной совместно с Лаб. вторичных метаболитов, впервые собрана и систематизирована информация о всех известных метаболитах (20 классов органических соединений), синтезируемых грибами рода *Penicillium*.
- База данных по хранению мицелиальных грибов ВКМ (426 родов, 1227 видов, 2779 штаммов), позволяет оценивать сроки сохранения жизнеспособности и проводить оперативный анализ оптимальных методов и режимов низкотемпературного замораживания и лиофильного высушивания для культур широкого спектра таксонов.
- Специализированная база данных «VKM-LINE» по публикациям, подготовленным с использованием штаммов фонда ВКМ (более 5,2 тыс. единиц библиографии), связана с каталожной базой данных и обеспечивает он-лайн доступ научного сообщества к опубликованной информации о поддерживаемых в ВКМ микроорганизмах.

## На пути к Биологическому ресурсному центру

В последние годы работы коллектива ВКМ фокусируются на достижении уровня мировых стандартов по всем видам коллекционной деятельности и созданию Биологического ресурсного центра (БРЦ). В фокусе внимания – развитие фонда и информационных ресурсов. Работы ведутся с учетом международных стандартов деятельности БРЦ, в оперативном взаимодействии с Международным центром данных по микроорганизмам (WDCM, WFCC) и ведущими БРЦ Европы, в т.ч., в рамках проекта по созданию пан-Европейской инфраструктуры для исследований микробных ресурсов (MIRRI – Microbial Resource Research Infrastructure).

**16 ПАРТНЕРОВ ПРОЕКТА MIRRI**

Коллекция	Страна
DSMZ	Германия
CABI	Великобритания
CBS	Нидерланды
CECT	Испания
CRBIP	Франция
CSIC-IMEDEA	Испания
IAFB	Польша
INRA-CIRM	Франция
JacobsUni	Германия
MUM	Португалия
MUT	Италия
SPP-PS	Бельгия
UGENT	Бельгия
UGOT	Швеция
USMI	Италия
VKM	Россия



## Основные направления научных исследований

- Изучение биологического разнообразия микроорганизмов различных экосистем, в том числе, экстремальных; введение в культуру и всесторонние исследования выделенных микроорганизмов.
- Выявление и описание новых таксонов, развитие системы классификации и методов идентификации.
- Таксономическое изучение культур, помещенных в ВКМ российскими (советскими) микробиологами в «домолекулярную эру» микробиологии.
- Поиск и изучение новых биополимеров, активностей и вторичных метаболитов микробного происхождения; оценка перспектив их использования для решения таксономических задач и в биотехнологии.
- Анализ полных геномов прокариот и эукариот с целью расширения информационного базиса для развития концепции вида у микроорганизмов и филогенетической системы, конкретизации представлений о «едином древе жизни», понимания стратегий адаптации микроорганизмов к экстремальным условиям, механизмов симбиотических взаимодействий и фитопатогенности.
- Разработка новых методов исследований микроорганизмов на субклеточном и надклеточном уровнях с помощью компьютерного анализа оптических образов.



### Среди основных результатов последних лет:

- При изучении таксономического разнообразия культивируемых и некультивируемых грибов в многолетнемерзлых отложениях Арктики и Антарктики выявлены грибные комплексы и доминирующие виды в более чем 200 исследованных образцах различного возраста (до нескольких миллионов лет), генезиса, глубины залегания и географии. Выделенные и охарактеризованные культуры (более 700 штаммов 26 родов) пополнили фонд ВКМ.
- Впервые проведен сравнительный анализ полных геномов 14 штаммов одного вида грибов (*Pseudogymnoascus pannorum*), изолированных из вечной мерзлоты разного возраста и современных экосистем. Оценено время существования общего предка (около 50 млн. лет назад), обосновано выделение нового порядка грибов, а также ряда новых видов среди *P. pannorum sensu lato*. (Совместно со специалистами Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова).
- Впервые найдены жизнеспособные бактерии, археи и грибы в незамерзающих хлоридно-натриевых линзах рассолов (криопэгах) вечной мерзлоты Восточной Сибири – уникальных природных объектах, характеризующихся низкой температурой (от -9 до -11°C) и изолированностью от воздействия внешних факторов. Обнаружены и описаны новые виды бактерий и архей.
- Выявлены и изучены метанобразующие археи широкого спектра известных и новых таксонов в многолетнемерзлых метан-содержащих отложениях Арктики. Результаты исследований свидетельствуют об активном состоянии метаногенов в домерзлотный период и являются важным аргументом в пользу биогенного происхождения метана в вечной мерзлоте Арктики.
- Обнаружены новые бактериальные ассоцианты растений, в том числе, краснокнижных, – представители ранее неизвестных родов (*Agreia*, *Herbiconiux*, *Leifsonia*) и новых видов родов *Agromyces*, *Clavibacter*, *Curtobacterium*, *Frigoribacterium*, *Microbacterium*, *Rathayibacter* и др.
- Результаты исследований анионных гликополимеров клеточных стенок актиномицетов выявили высокую степень корреляции состава и структур полимеров с филогенетическим положением организмов; обнаружено несколько десятков новых структур гликополимеров, в их числе нового класса – тейхулозоновые кислоты. (Совместно с Институтом органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН и Московским государственным университетом им. М.В. Ломоносова).
- Приоритетные исследования антифунгальной активности дрожжей показали высокую степень корреляции группирования штаммов по чувствительности к микоцинам, последовательностям генов 26S рРНК и ряду других весомых таксономических признаков. На множестве примеров продемонстрировано, что метод микоцинотипирования позволяет выявлять гетерогенность видов, описанных ранее на основе морфологических и физиолого-биохимических характеристик. Впервые обнаружена фунгицидная активность дрожжей, обусловленная секрецией гликолипидов.



- Впервые осуществлена оценка таксономического разнообразия мирового коллекционного фонда культивируемых грибов с использованием созданной базы данных «FungalDC», интегрированной с основными информационными ресурсами мира по грибам. Установлено, что в более чем 400 коллекциях различных стран поддерживается около 5,3% от общего числа известных видов и внутривидовых таксонов грибных организмов.
- Разработаны новые подходы для субклеточного анализа единичных микробных клеток с помощью флуоресцентной микроскопии, сопряженной с компьютерным анализом изображений. На их основе создан метод ускоренного прогноза жизнеспособности микроорганизмов после консервации. Показана возможность применения клеток дрожжей в качестве модели эукариотных клеток для изучения внутриклеточного распределения противораковых флуорофоров.

### **Научно-сервисные услуги**

- Наряду с депонированием микроорганизмов, ВКМ предоставляет широкий спектр других услуг по заявкам пользователей, в том числе, услуги по идентификации микроорганизмов, определению характеристик, требуемых для описания новых таксонов, оценке грибостойкости материалов в соответствии с ГОСТ. В числе новых услуг – определение последовательностей «housekeeping» генов и идентификация микроорганизмов методом МАЛДИ масс-спектрометрии.
- Фонд, научно-сервисные и информационные услуги ВКМ востребованы широким кругом научно-исследовательских и производственных организаций, ВУЗов, а также предприятиями малого и среднего бизнеса (составляют более половины от числа пользователей). Ежегодно заключается около сотни договоров со сторонними организациями. ВКМ лидирует среди микробных коллекций страны по числу ссылок на штаммы фонда в международных базах данных и цитированию штаммов в публикациях (пополняемая база данных по использованию штаммов ВКМ в научных исследованиях содержит более 5 тыс. единиц библиографии).

### **Научно-образовательная деятельность**

- ВКМ является одним из центров повышения квалификации микробиологов из различных научных учреждений РФ и стран СНГ в области таксономии микроорганизмов и коллекционной деятельности. На базе ВКМ проходят практику и выполняют дипломные и диссертационные работы студенты, магистранты и аспиранты Пушчинского естественно-научного института (ПушГЕНИ) и ряда других ВУЗов страны. Специалисты ВКМ читают основные и факультативные курсы для студентов и магистрантов ПушГЕНИ и Биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова.



*Заведующая – доктор биологических наук Светлана Михайловна Озерская*

**Л**аборатория входит в состав отдела «Всероссийская коллекция микроорганизмов» (ВКМ), создана в 2011 г. на базе сектора мицелиальных грибов отдела ВКМ. В составе лаборатории 5 научных сотрудников, 4 инженера, 1 лаборант.

### **Основные направления деятельности**

Поддержание и изучение фонда грибов ВКМ – группы микроорганизмов, обладающих высоким биотехнологическим потенциалом, пополнение фонда новыми штаммами, изучение жизнеспособности культур разных таксонов в процессе длительного хранения различными методами, создание информационных банков данных по грибам и каталогизация имеющейся информации по штаммам грибного фонда ВКМ. Большое внимание уделяется вопросам таксономии и номенклатуры грибов.

Научные исследования связаны, главным образом, с изучением разнообразия культивируемых и некультивируемых грибов в различных, в т.ч., экстремальных местообитаниях (арктические и антарктические глубинные многолетнемерзлые отложения, вулканические мерзлые пеплы Камчатки, криопэги, воды глубинных антарктических озер и др.), оценкой их потенциально полезных и потенциально опасных свойств.

### **Фонд мицелиальных грибов ВКМ**

Фонд включает более 4250 штаммов, представителей всех групп грибов, традиционно поддерживаемых в коллекциях культур, в их числе Chromista (Oomycota), Fungi (Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota), а также грибоподобные организмы - Protozoa (Acrasiomycota, Mucromycota).

#### ***Наиболее крупные группы по численности и таксономическому разнообразию:***

- Оомицеты: 84 штаммов, 10 родов, 50 видов и вариантов.
- Зигомицетовые грибы: 604 штамма, 45 родов, 174 вида и варианта.
- Аскомицеты: 3007 штаммов, 9 классов, 24 порядка, 99 семейств, 322 рода, более 1090 видов и внутривидовых таксонов. Основная часть коллекции сумчатых грибов – это анаморфные культуры, мицелиальные телеоморфы составляют лишь 1/6 фонда аскомицетов – 475 штаммов, 83 рода, 181 вид и вариант.
- Базидиомицеты: 439 штаммов, 11 классов, 38 порядков, 83 семейства, 176 родов и 448 видов и вариантов. При этом мицелиальные грибы, представляющие анаморфные стадии базидиомицетов, насчитывают всего 48 штаммов (12 родов, 24 вида и варианта).



*кандидат биологических наук  
Наталья Евгеньевна  
Иванушкина*

Сведения по мицелиальным грибам ВКМ включены в регулярно обновляемый электронный каталог ВКМ, электронный сводный каталог 17 российских коллекций (2003) и WFCC Global Catalogue of Microorganisms ([gcm.wfcc.info/](http://gcm.wfcc.info/)).

#### **Основные научные результаты**

Впервые исследовано разнообразие культивируемых и некультивируемых грибов (метагеномика) в образцах многолетнемерзлых отложений Арктики и Антарктики. Выявлены грибные комплексы и доминирующие виды более чем в 200 изученных образцах отложений различного генезиса, возраста, глубины залегания и географии. Создана коллекция идентифицированных палеогрибов (более 700 штаммов 26 родов), представляющая интерес для фундаментальных и прикладных исследований. (Образцы для исследований предоставлены Институтом биологических и физико-химических проблем почвоведения РАН).

Впервые проведена оценка таксономического разнообразия мирового коллекционного фонда грибов, определена доля поддерживаемых в коллекциях видов от общего числа внутриродовых таксонов грибов. Получены данные о реальном разнообразии грибных таксонов, представленных в GenBank (NCBI). Полученные результаты позволяют выявить «белые пятна» в информации таксономического, филогенетического и номенклатурного характера по различным группам грибов.

Систематизированы многолетние данные по долгосрочному (более 40 лет) хранению культур мицелиальных грибов фонда ВКМ (2779 штаммов, 1227 видов, 426 родов) при консервации различными методами низкотемпературного замораживания и лиофильного высушивания. Создана база данных, позволяющая проводить оперативную оценку сроков длительного гарантированного сохранения жизнеспособности культурами широкого спектра таксонов при консервации различными методами.

Разработаны и периодически обновляются информационные базы данных о разнообразии грибов в коллекциях мира, о сроках сохранения жизнеспособности штаммов различных видов грибов, о метаболитах, способность к продукции которых показана для штаммов грибов ВКМ.

Сотрудниками лаборатории опубликовано более 280 работ, в их числе экспериментальные статьи и обзоры в ведущих отечественных и зарубежных журналах, главы книг и учебных пособий (см. [www.vkm.ru](http://www.vkm.ru)). Результаты исследований неоднократно докладывались на различных российских и международных конференциях.



*кандидат биологических наук  
Галина Александровна  
Кочкина*



Заведующая - кандидат  
биологических наук  
Виктория Артуровна  
Щербакова

**Л**аборатория создана на базе лаборатории анаэробного метаболизма микроорганизмов в 2008 году и в настоящее время является частью Отдела Всероссийская коллекция микроорганизмов.

Состав лаборатории: 2 научных сотрудника, 2 старших инженера, 1 инженер, 1 старший лаборант, 1 аспирант.

### **Основные направления научной деятельности лаборатории:**

- поиск, выделение, описание и изучение анаэробных бактерий и метаногенных архей из экстремальных мест обитания - содовых озер, грунтов и криопэггов вечной мерзлоты Арктики, экосистем Антарктиды;
- исследование некультивируемого разнообразия анаэробных микроорганизмов в экстремальных эконических нишах с использованием молекулярно-экологических методов;
- изучение возможностей применения анаэробных бактерий и архей в биотехнологии, в том числе, для получения биоводорода и биогаза, антифризных белков и холодоустойчивых ферментов.

### **Основные достижения**

Сотрудники лаборатории принимали участие в пионерском исследовании микробных сообществ хлоридно-натриевых рассолов (криопэггов) в многолетнемерзлых отложениях возрастом 6-120 тыс. лет. Криопэги остаются жидкими при температуре *in situ* от -9 до -11°С и представляют собой единственное место на Земле, характеризующееся постоянной отрицательной температурой, высокой соленостью и изолированностью от воздействия внешних факторов. Создана коллекция новых анаэробных и факультативно-анаэробных психрофильных и психротрофных микроорганизмов. В связи с возможностью использования подобных микроорганизмов в процессах низкотемпературной деградации ксенобиотиков, в качестве продуцентов биологически-активных веществ и белков, обладающих антифризной активностью, данная коллекция представляет собой значительный биотехнологический интерес.

С использованием методов молекулярной экологии впервые получены данные о разнообразии архей в образцах многолетнемерзлых отложений Арктики, характеризующихся постоянными отрицательными температурами и возрастом от 6 до 25 тысяч лет. Анализ клоновых библиотек архейных генов 16S рРНК и *mcrA* показал, что во всех исследованных образцах археи филума *Euryarchaeota* преобладали над представителями *Crenarchaeota*. Метаногенные археи были представлены новыми таксонами порядков *Methanomicrobiales*, *Methanobacteriales*, *Methanococcales* и *Methanocelles* с наиболее широким представительством родов *Methanoregula* (22.1%) и *Methanosarcina* (20.0%). Более 50% клонов представляли метаногенные таксоны, использующие H<sub>2</sub> и CO<sub>2</sub> в качестве источников углерода и энергии.



В лаборатории поддерживается часть фонда ВКМ (около 300 штаммов), представляющая собой трудно культивируемые виды анаэробов, выделенных из экстремальных мест обитания.

В 2008-2014 гг в лаборатории проходили практику, выполняли курсовые и дипломные работы студенты Уральского, Кубанского, Самарского и Вятского федеральных университетов, стажировались сотрудники и аспиранты научных и научно-производственных организаций городов Иваново, Тюмени и Улан-Удэ.

Сотрудниками лаборатории опубликовано более 100 статей в российских и зарубежных журналах.

### Наиболее важные публикации

Gilichinsky D., Rivkina E., Bakermans C., Shcherbakova V., Petrovskaya L., Ozerskaya S., Ivanushkina N., Kochkina G., Laurinavichuis K., Pecheritsyna S., Fattakhova R., Tiedje J. Biodiversity of cryopegs in permafrost. *FEMS Microbiol Ecol.* 2005. V. 53. P.117-128.

Shcherbakova V., Chyvil'skaya N., Rivkina E., Pecheritsyna S., Laurinavichius K., Suzina N., Osipov Yu., Lysenko A., Gilichinsky D., Akimenko V. Novel psychrophilic anaerobic spore-forming bacterium from the overcooled water brine in permafrost: description *Clostridium algoriphilum* sp.nov. *Extremophiles.* 2005. 9: 239-246.

Rivkina E., Shcherbakova V., Laurinavichius K., Pecheritsyna S., Krivushin K., Kraev G., Gilichinsky G. Biogeochemistry of methane and methanogenic archaea in permafrost. *FEMS Microbial Ecology.* 2007. V. 61. N. 1. P.1-15.

Krivushin K. V., Shcherbakova V.A., Petrovskaya L.E., Rivkina E.M. *Methanobacterium veterum* sp. nov., from ancient Siberian permafrost. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2010. 60: 455 - 459.

Shcherbakova V.A., Rivkina E.M., Pecheritsyna S.A., Laurinavichius K., Suzina N.E., Gilichinsky D.A. *Methanobacterium arcticum* sp. nov., methanogenic archaeon from Holocene Arctic permafrost. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2011. 61:144-147.

Ryzhmanova Y.V., Nepomnyashchaya Y.N., Abashina T.N., Ariskina E.V., Troshina O.Yu., Vainshtein M.B., Shcherbakova V.A. New sulfate-reducing bacteria isolated from Buryatian alkaline brackish lakes: description of *Desulfonatronum buryatense* sp. nov. *Extremophiles.* 2013. V. 17. P. 851-859.

Shcherbakova V., Chuvil'skaya N., Rivkina E., Demidov N., Uchaeva V., Suetin S., Suzina N., and Gilichinsky D. *Celerinatantimonas yamalensis* sp. nov., a cold-adapted diazotrophic bacterium from a cold permafrost brine. *Int J Syst Evol Microbiol* 2013. V. 63. P. 4421-4427



Заведующий – доктор  
биологических наук,  
профессор  
Виталий Иосифович  
Дуда

**Л**аборатория Цитологии микроорганизмов организована в 1993 г. В составе лаборатории: 1 старший научный сотрудник, 4 научных сотрудника, 1 старший инженер, 1 ведущий инженер-электроник, 2 инженера, 1 лаборант, 1 аспирант.

### Направление исследований и их результаты

Основное внимание уделяется изучению следующих проблем: описание новых клеточных структур и органелл; характеристика разнообразия ультраструктурной организации клеток прокариот различных филогенетических групп; характеристика структурных основ паразитизма (хищничества); изучение явления трансверсии полярности клеток.

### Основные результаты

#### Описание ранее неизвестных клеточных ультраструктур

1. У анаэробных (*Anaerobacter polyendosporus* PS-1<sup>T</sup>), аэробных (*Thiobacillus thiooxidans*) бактерий и некоторых дрожжей обнаружен новый тип организации цитоплазматических мембран в виде обширных вставок плоских ламеллярных интрамембранных липидных структур (ЛИМС), организованных по типу «мембрана в мембране» (инвертированные мембраны) (*Duda et al.. J. Membrane Biol. 2001. V.180. P. 33-48.*).
2. Изучение новых факультативно-паразитических бактерий – *Kaistia* sp., штаммы NF1 и NF3 и *Chryseobacterium* sp., штаммы NF4 и NF5 позволило описать новую оригинальную клеточную структуру – адгезивную сеть. Полисахаридные тяжи этой сети функционируют наподобие молекулярных канатов, способствующих подтягиванию клетки паразита к клетке жертвы.
3. Установлено, что неспорообразующие бактерии (pp. *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas* и др.) способны образовывать особые структурно дифференцированные покоящиеся анабиотические формы, названные цистоподобными клетками. Показано, что большинство сохранивших целостность клеток в вечно мёрзлых грунтах можно отнести к покоящимся цистоподобным формам.
4. Впервые описаны экстрацеллюлярные газовые баллоны (ЭГБ), свойственные ряду видов бактерий и обладающие уникальной ультраструктурной организацией.
5. У некоторых изолированных из почв псевдомонад обнаружены и охарактеризованы особые делящиеся надклеточные структуры в виде «камер-мешочков», имеющих оболочки и содержащие внутри себя растущие микроколонии бактериальных клеток.



***Характеристика примитивного аналога экзоцитоза у прокариот.***

Обнаружено, что некоторые бактерии, используя наружную клеточную мембрану, выводят из клеток детоксифицированные соединения металлов в виде упакованных в мембранные везикулы гранул.

***Развитие концепции об ультрамикробактериях (УМБ).***

Из различных экстремальных природных биотопов выделено более 50 штаммов чистых культур свободноживущих *ультрамелких бактерий* с объёмом клеток ( $V$ ) менее  $0.1 \text{ мкм}^3$ , относящихся к различным филогенетическим группам домена *Bacteria*.

Сформулировано следующее определение группы: ультрамикробактерии— это микробные виды домена *Bacteria*, клетки которых обладают объёмом менее  $0.1 \text{ мкм}^3$  и малым размером генома [в пределах - от 3.2 до 0.58 Mb] (Duda V. I. 2011. Ultramicrobacteria. In: eLS (Encyclopedia of Life Sciences).

***Изучение явления трансверсии полярности клеток. Механизм полиспорогенеза.***

Изучение процесса спорообразования у *Anaerobacter polyendosporus* PS-1<sup>T</sup> позволило обнаружить и описать явление трансверсии (“перехода”) от биполярности к многополярности клеток. Полинуклеоидность и мультиполярность клеток являются определяющими условиями для осуществления эндогенного полиспорогенеза. При этом во многих клетках происходит синхронное образование от трёх до семи спор-близнецов (Дуда с соавт.. Микробиология. 2014, Т. 83. №5.). 575-582.

За период с 1993 по 2015 г сотрудниками лаборатории опубликовано более 140 научных статей в ведущих отечественных и зарубежных журналах. В лаборатории проводились исследования в рамках актуальных научных проектов, поддерживаемых грантами: РФФИ (10 проектов); ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (2 проекта); проекты Президиума РАН «Фундаментальные основы технологий наноструктур и наноматериалов» (2 проекта). Под руководством проф. В.И. Дуды выполнены и защищены 3 кандидатских и 4 магистерских диссертации.



Заведующий – доктор  
биологических наук,  
профессор Юрий  
Александрович  
Троценко

**Л**аборатория радиоактивных изотопов основана в 1970 году. В составе лаборатории 2 ведущих научных сотрудника, 5 старших научных сотрудников, 5 научных сотрудников, 1 инженер, 1 лаборант, аспиранты и студенты.

**Область научных исследований:** изучение биоразнообразия и физиолого-биохимических особенностей метилотрофных микроорганизмов (бактерий и дрожжей). Метилотрофы, использующие в качестве источников углерода и энергии метан, его окисленные и замещенные производные (метанол, метилированные амины, галометаны метилсернистые соединения и др.), являются важным звеном в цепи метаболических превращений биогенных элементов и своеобразным биофильтром на пути в тропосферу летучих одноуглеродных соединений, уменьшающим опасность истощения озонового слоя Земли.

Метилотрофы - перспективные объекты для создания биотехнологий получения разнообразных полезных продуктов из относительно дешевых непищевых субстратов, биоремедиации загрязненных экосистем и разработки биосенсоров, применяемых при детекции  $C_1$ -соединений.

### Основные направления работы:

- Расширение, поддержание коллекции охарактеризованных аэробных метилотрофных бактерий и исследование их биотехнологического потенциала
- Изучение организации и регуляции специфического метаболизма метилотрофов
- Изучение физиолого-биохимических основ метилотрофного фитосимбиоза
- Исследование молекулярно-биохимических механизмов адаптации метиловых бактерий к минерализации галометанов
- Исследование механизмов осмо- и термоадаптации галофильных и термофильных метилотрофов.

### Основные достижения:

- Создана и поддерживается наиболее представительная в мире коллекция аэробных метилотрофных бактерий. Узаконены 10 новых родов (*Methylovorus*, *Methylocella*, *Methylothermus*, *Methylocapsa*, *Methyloferula*, *Methylarcula*, *Albibacter*, *Methylopila*, *Methylorhabdus*, *Hanschlegelia*, *Methyloligella*) и более 50 новых видов, включая детально охарактеризованные экстремофильные (гало-, алкало-, термо- и ацидофильные) метилотрофы и метилотрофные фитосимбионты.
- Обнаружено, что солезависимые метилотрофы являются эффективными продуцентами биопротектора эктоина, используемого в биомедицине, косметологии и научной практике в качестве стабилизатора биомолекул и целых клеток. Охарактеризованы гены и рекомбинантные ферменты пути биосинтеза эктоина, впервые у бактерий обнаружен и охарактеризован репрессор EctR, контролирующий транскрипцию. У метилотрофов выявлено функционирование нового биохимического пути синтеза и деградации сахарозы, очищены и охарактеризованы гены и ферменты.



- У аэробных метанотрофов обнаружено функционирование пирофосфат-зависимого гликолиза, в котором происходит реутилизация энергии неорганического пирофосфата.
- Показана способность осуществлять ферментацию формальдегида до органических кислот и  $H_2$  и перспективность метанотрофов в качестве агентов биокатализа для получения из метана полиуглеродных соединений. Разработаны новые методы определения (фосфо)сахаров, орто- и пирофосфата.
- Показано, что метилотрофы перспективны как продуценты биосовместимого и биodeградебельного пластика полигидроксibuтирата – альтернативы персистентным синтетическим полимерам, основному фактору загрязнения биосферы.

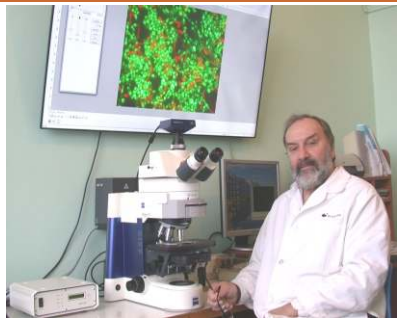


Выделены галофильные метилотрофы, синтезирующие полигидроксibuтират с высокой молекулярной массой (>3000000 Да). Нарabатываются образцы биополимеров для испытания в качестве материала для изделий медицинского назначения.

- Обнаружена симбиотическая связь с растениями аэробных метилобактерий и метанотрофов. Выявлены физиолого-биохимические особенности, обуславливающие стимулирующий эффект метилотрофов на рост и развитие растений, регенерацию эксплантов, предложены и испытаны новые биопрепараты, стимулирующие рост растений.
- Получены данные о важной роли внутриклеточного рН-гомеостаза в метаболизме метилобактерий-деструкторов дихлорметана, процессов ДНК-репарации и снижении алкилирующего действия на ДНК промежуточного метаболита S-хлорметилглутатиона. Изучаются генетические детерминанты метаболизма  $CH_2Cl_2$  и механизмов адаптации деструкторов к деградации дихлорметана.
- Коллектив лаборатории вносит существенный вклад в расшифровку последовательностей геномов метилотрофных бактерий. Полученная информация об организации и регуляции специфического метаболизма метилотрофов суммирована в 5 монографиях, двух учебных пособиях и 400 статьях.

#### **Образовательная деятельность:**

В лаборатории подготовлены и защищены 3 докторских, 35 кандидатских и 26 магистерских диссертаций, прошли стажировку и выполнили курсовые и дипломные работы более ста студентов различных вузов. Сотрудники лаборатории читают авторские курсы лекций в рамках магистерской образовательной программы «Микробиология и биотехнология» ПущГЕНИ.



Заведующий – кандидат  
биологических наук  
Владимир Васильевич  
Дмитриев

**В**ременный научно-творческий коллектив (ВНТК) трёхмерных структур микроорганизмов создан в 2013 году. Выявление разнообразных приспособительных реакций у низших эукариот позволяет приблизиться к раскрытию механизмов ряда патологических процессов у млекопитающих и человека и путей их преодоления на клеточном уровне.

Основные исследования, проводимые в ВНТК, направлены на изучение структурно-функциональных адаптационных изменений в клетках дрожжей в экстремальных условиях.

Базисным методом исследований является компьютерная реконструкция трёхмерных структур на основе серий ультратонких и полутонких срезов.

Для решения поставленных задач используется также широкий спектр цитобиохимических подходов и традиционных методов электронной и световой микроскопии.

### Наиболее важные достижения

- Обнаружено, что при адаптации к утилизации труднодоступных питательных субстратов (гидрофобных, водонерастворимых, поверхностно-активных и др.) у дрожжевых клеток модифицируются поверхностные и экзоцеллюлярные структуры. При этом модифицированные полисахариды клеточной оболочки служат матрицей для иммобилизации экзоферментов: окислительных ферментов, липаз, целлюлаз, гидролаз ПАВ (Dmitriev V.V. et al. *Electron microscopic studies on the formation of vesicular bodies during cell wall degradation and regeneration in yeast*. Z.Allg. Mikrob., 1977, 17(4); Дмитриев В.В. и др. *Ультраструктурные перестройки клеточной стенки дрожжей при росте на различных источниках углерода и в условиях углеродного голодания*. Докл. Акад. Наук СССР, 1977, 234(2); Дмитриев В.В. и др. *О дрожжах, утилизирующих поверхностно-активное вещество лаурокс-9*. Микробиология, 1988, 57(2); V. Dmitriev et al., *Microorganisms form exocellular structures, trophosomes, to facilitate biodegradation of oil in aqueous media*. FEMS Microbiol Lett, 2011, 315.

- Впервые на ультраструктурном уровне показана принципиальная возможность реиммобилизации и функционирования чужеродных ферментов на поверхностных компонентах дрожжей в условиях смешанного культивирования. Способность экзоцеллюлярных веществ (капсул) служить естественной матрицей для иммобилизации чужеродных внеклеточных ферментов была подтверждена в опытах по переносу ферментов от одних видов микроорганизмов на капсулу других. Эти данные важны как для теории, так и для практики при создании новых типов биотехнологических препаратов. (Дмитриев В.В. и др. *Реиммобилизация чужеродных гидролаз у дрожжей в смешанных популяциях*. Микробиология, 1993, 62(5).



Аспирант А.Н. Звонарев

- На базе электронномикроскопических и цитобиохимических исследований впервые раскрыт и детально описан механизм формирования «каналов» в клеточной стенке дрожжей. Методами электронномикроскопической цитохимии и иммуноцитохимии была показана локализация окислительных ферментов в «каналах» и на экзоцеллюлярных фибриллярных компонентах микробных клеток. Эти данные являются важным вкладом в понимание механизмов микробной утилизации углеводов нефти, и особенно в выявление локализации ферментов первичного окисления. (Dmitriev V. et. al. *A cyto-biochemical study of the 'canal' formation the yeast cell wall*. European J. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1980. V. 9; V. Dmitriev et. al. *Microorganisms form exocellular structures, trophosomes, to facilitate biodegradation of oil in aqueous media*. FEMS Microbiol Lett, 2011, 315.

- Впервые на базе серийных срезов был проведён анализ трёхмерной организации микробного сообщества при утилизации гидрофобного субстрата в водной среде. Было показано, что из внеклеточного обобществлённого материала формируются структуры надорганизменного уровня – «трофосомы», основой которых служит биополимерный матрикс. «Трофосомы» могут удерживать микроорганизмы внутри локального пространства, связывать и модифицировать питательный субстрат с помощью экзоферментов, обеспечивать макроструктуру сообщества с оптимальными диффузионными расстояниями. (V. Dmitriev et. al., *Microorganisms form exocellular structures, trophosomes, to facilitate biodegradation of oil in aqueous media*. FEMS Microbiol Lett, 2011, 315)

- Стереологический анализ на базе электронномикроскопической криофрактографии позволил выявить у дрожжей связь между характерными латеральными и трансмембранными миграциями инвагинаций и внутримембранных частиц (интегральные белки) в цитоплазматической мембране и секрецией ферментов. (Dmitriev V.V. et al. *Structural heterogeneity of the plasmalemma of the yeast, Schwanniomyces occidentalis, induced by substrate*. Biochimica et Biophysica Acta, 1982, 686)

- Разработаны новые уникальные методы и подходы: (а) Впервые был адаптирован и применён компьютерный метод трёхмерной реконструкции изображения микробных объектов на базе серийных срезов; (б) Разработан и применён новый электронномикроскопический метод локализации гидролаз у микроорганизмов; (в) Для выделения микроорганизмов непосредственно из природных биотопов (*in situ*), в частности из грунтов вечной мерзлоты, был разработан и применён метод низкотемпературного фракционирования микроорганизмов. (Дмитриев В.В. и др., *Новый метод электронно-микроскопического выявления неспецифических гидролаз у дрожжей*. Микробиология, 1992, 61(3); V. Dmitriev et. al., *Microorganisms form exocellular structures, trophosomes, to facilitate biodegradation of oil in aqueous media*. FEMS Microbiol Lett, 2011, 315; Рогачевский В. В., Дмитриев В. В., *Патент на изобретение № 2533786 Способ приготовления стеклянных ножей для получения стабильной серии ультратонких срезов*, 2014).

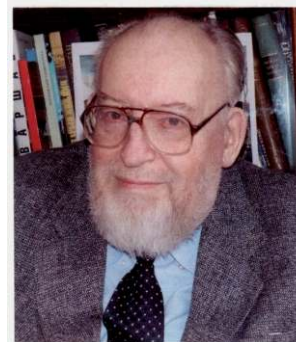


Заведующая –  
доктор биологических  
наук Татьяна  
Валентиновна  
Кулаковская

Лаборатория основана член.-корр. РАН И.С. Кулаевым в 1969 г. В составе лаборатории 3 старших научных сотрудника, 5 научных сотрудников, 1 лаборант.

#### Основные направления исследований:

- Изучение неорганических полифосфатов, универсальных полифункциональных биополимеров, и ферментов их обмена.
- Изучение биоразнообразия, состава и механизма образования фосфорных резервов микроорганизмов.
- Характеристика новых перспективных природных фунгицидов
- Структурно-функциональная характеристика АТФазы цитоплазматической мембраны, ключевого фермента жизнедеятельности дрожжевой клетки.



член-корреспондент  
РАН Игорь Степанович  
Кулаев  
26.03.1930-30.10.2013

#### Наиболее важные достижения за последние годы:

- Детально охарактеризованы полифосфатазы дрожжей, PPX1 и PPN1, которые различаются по физико-химическим свойствам, локализации в клетке и роли в метаболизме полифосфатов.
- Обнаружен новый фермент фосфорного обмена дрожжей, специфическая эндополифосфатаза, которая фрагментирует неорганические полифосфаты с высокой степенью полимерности на более короткие цепи без высвобождения ортофосфата, причем длинноцепочечные полифосфаты гидролизуются более эффективно
- Обнаружено участие неорганических полифосфатов в преодолении клетками дрожжей стрессов, вызванных окислителями, токсическим воздействием катионов тяжелых металлов или фунгицидов.
- Обнаружены новые фосфорные резервные соединения микроорганизмов: малорастворимые фосфаты магния у бактерий и архей и внеклеточный фосфоманнан у дрожжей *Kuraishia capsulata*. Проведен сравнительный анализ физиологических условий фосфорной биоминерализации бактериальных и дрожжевых клеток.
- Установлена структурно-функциональная роль значительного набора отдельных аминокислотных замен в молекуле  $H^+$ -АТФазы дрожжей, важнейшего фермента, обеспечивающего жизнедеятельность клетки, обнаружены надмолекулярные перестройки в  $H^+$ -АТФазном комплексе плазматической мембраны дрожжей при активации фермента глюкозой.
- Совместно с ВКМ охарактеризованы новые перспективные природные фунгициды – целлобиозолипиды базидиомицетных дрожжей, установлена их структура, механизм и спектр действия.



### Избранные публикации

Ryazanova LP; Suzina NE; Kulakovskaya TV; Kulaev IS Phosphate accumulation of *Acetobacter xylinum*. Archives of microbiology 2009;191(5):467-71.

M. Miranda, J.P. Pardo, V.V. Petrov Structure-functional relationships in membrane segment 6 of the yeast plasma membrane Pma1 H<sup>+</sup>-ATPase. Biochemica et Biophysica Acta. 2011. 1808. 1781-1789.

Permyakov, V. Suzina, A. Valiakhmetov Activation of H<sup>+</sup>-ATPase of the plasma membrabe of *Saccharomyces cerevisiae* by glucose: the role of sphingolipid and lateral enzyme mobility. PLOS One. 2012. v.7. I.2. e30966. p. 1-7.

Breus NA, Ryazanova LP, Dmitriev VV, Kulakovskaya TV, Kulaev IS. Accumulation of phosphate and polyphosphate by *Cryptococcus humicola* and *Saccharomyces cerevisiae* in the absence of nitrogen. FEMS Yeast Res. 2012;12(6):617-624.

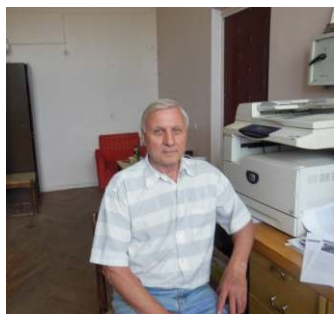
Andreeva NA Ryazanova LP, Dmitriev VV, Kulakovskaya TV, Kulaev IS. Adaptation of *Saccharomyces cerevisiae* to Toxic Manganese Concentration Triggers Changes in Inorganic Polyphosphates FEMS Yeast Research, 2013, 13(5):463-470.

E. Kulakovskaya , B. Baskunov and A. Zvonarev The Antibiotic and Membrane-damaging Activities of Cellobiose Lipids and Sophorose Lipids. J. Oleo Sci. 2014. 63 (7) 701-707 .

Л.П. Личко, М.А. Эльдаров, М.В. Думина, Т.В. Кулаковская Сверхэкспрессия гена PPK1 не влияет на *Saccharomyces cerevisiae*. Биохимия, 2014, т.79, в.11, 1487-1492.

Т.В. Кулаковская, Л.П. Личко, Л.П. Рязанова Разнообразие фосфорных резервов микроорганизмов. Успехи биологической химии, 2014, т. 54.с.385-412.

Andreeva, N., Trilisenko, L., Eldarov, M., and Kulakovskaya T. (2015) Polyphosphatase PPN1 of *Saccharomyces cerevisiae*: switching of exopolyphosphatase and endopolyphosphatase activities. PloS one 10(3), e0119594.



Заведующий – доктор  
биологических наук  
Александр Григорьевич  
Меденцев

**Л**аборатория создана в 2008 году. В лаборатории изучаются механизмы устойчивости грибов, дрожжей и бактерий к стрессовым воздействиям. Состав лаборатории: 1 главный научный сотрудник; 2 ведущих научных сотрудника; 2 старших научных сотрудника, 2 научных сотрудника, 3 младших научных сотрудника, 1 инженер, 1 лаборант-исследователь.

В природных экосистемах микроорганизмы постоянно подвергаются воздействию неблагоприятных факторов внешней среды. Выживание и конкурентоспособность по отношению к другим видам обеспечивается «запуском» специальных механизмов, действие которых может включать синтез ферментов, а также защитных или сигнальных метаболитов.

Исследование адаптационных механизмов у микроорганизмов особенно актуально, поскольку именно в стрессовых условиях они способны осуществлять процессы, важные для человека, такие как детоксикация вредных соединений, синтез антибиотиков, токсинов, пигментов и др.

### Основные результаты

1. При изучении адаптации грибов родов *Fusarium*, *Trichoderma* и дрожжей *Yarrowia lipolytica* показано, что одной из мишеней действия стресс-факторов является дыхательная цепь, повреждение которой прямо или косвенно приводит к образованию активных форм кислорода, снижению внутриклеточного содержания АТФ и цАМФ. Снижение концентрации цАМФ как негативного фактора транскрипции у грибов приводит к активации защитных механизмов.
2. С помощью ингибиторного анализа установлено, что одним из компонентов сложного адаптивного ответа является «включение» альтернативного пути переноса электронов - цианидрезистентной оксидазы. Основная функция альтернативной оксидазы состоит в поддержании окислительной активности клеток и сохранении способности к синтезу АТФ в первом пункте сопряжения на уровне эндогенной НАДН-дегидрогеназы.
3. Установлено, что в качестве стрессового ответа в клетках грибов и дрожжей происходит одновременное увеличение активностей антиоксидантных ферментов (каталазы, супероксиддисмутазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и глутатионредуктазы), а также изменение их ультраструктурной организации. Показана однотипность ответа клеток на различные стресс-факторы, что позволяет предполагать неспецифичность защитных механизмов или наличие общего центра их активации.
4. Показано, что стрессовые воздействия (экстремальные значения рН, недостаток в среде источников углерода, азота, фосфора, действие оксидантов, ингибиторов дыхания или фитоалексинов) провоцируют биосинтез фитотоксических пигментов нафтохиноновой природы грибами рода *Fusarium*.
5. Определен механизм антибиотического и фитотоксического действия нафтохинонов.
6. Установлен механизм устойчивости гриба-продуцента к собственным нафтохинонам. Высокая биологическая активность нафтохинонов обеспечивает преимущество грибу-продуценту в конкуренции с другими организмами в природном окружении.



7. Показано, что в стрессовых условиях грибы реализуют свой бисинтетический потенциал: грибы рода *Trichoderma* синтезируют L-лизин--оксидазу, *Y. lipolytica* - НАД<sup>+</sup>-зависимую алкогольдегидрогеназу и L-лактатоксидазу.

8. Изучаются физиологические аспекты синтеза L-лизин--оксидазы грибами рода *Trichoderma*. Охарактеризованы ее ферментативные, антимикробные и противоопухолевые свойства. Разработана технология (регламент) получения фермента на лабораторном уровне. Стандартные образцы фермента используются для создания эффективных схем терапии опухолей. Результаты защищены патентами.

9. Для более полного понимания биологического действия различных метаболитов (в том числе ферментов, пигментов) был применен новый кинетический подход - векторный метод представления ферментативных реакций. Метод расширяет возможности исследований механизма действия метаболитов, в том числе, позволяет контролировать дыхательные цепи бактерий и митохондрий, определять сайты и константы связывания.

10. Изучаются особенности организации и функционирования терминальной метакрилатной редокс системы у уникальной анаэробной дельта-протеобактерии *Geobacter sulfurreducens* AM-1, растущей на ацетате и метакрилате (токсичном синтетическом соединении) в качестве соответственно донора и акцептора электронов. Совместно с Центром регуляции генома (*Barcelona, Spain*) был секвенирован полный геном и идентифицированы гены, кодирующие белки метакрилатной редокс системы: флавиносодержащую метакрилатредуктазу и тетрагемовый цитохром *c*.

11. В плане выяснения молекулярных механизмов взаимодействия растений и микроорганизмов на примере бактериальной ассоциации *Bacillus firmus* E3 и *Klebsiella terrigena* E6 показана роль *p*-оксибензойной кислоты и других фенольных соединений в стимуляции азотфиксации.

12. Сконструированы уникальные штаммы клубеньковых бактерий с повышенной азотфиксацией - за счет регуляторных мутаций глутаминсинтетазы у *Bradirizobium japonicum* (симбионт сои) и дополнительного набора *nif*-генов у *B. leguminosarum* (симбионт гороха).

13. Впервые выделены и охарактеризованы ассоциированные с растениями и почвенной биотой молочнокислые бактерии родов *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Weisella*, *Lactobacillus*, солюбилизующие нерастворимые фосфаты, что позволяет использовать их для повышения плодородия почв.

Наша лаборатория сотрудничает с лабораториями Германии, Испании, РУДН, Российским онкологическим научным центром им. Н.Н. Блохина РАМН.

С 2009 по 2015 г.г. опубликовано 34 статьи в реферируемых журналах.



Заведующая – кандидат биологических наук Наталья Валерьевна Васильева

Лаборатория биохимии клеточной поверхности микроорганизмов создана в 2005 г. Первым руководителем лаборатории и идейным вдохновителем была Ольга Андреевна Степная. Все результаты, которые будут изложены ниже, получены под ее руководством. В составе лаборатории 2 кандидата наук, 2 сотрудника без степени, 2 лаборанта, 1 инженер.

Основным объектом исследований является грамотрицательная бактерия *Lysobacter* sp., секретирующая в окружающую среду бактериолитические ферменты при выращивании в специально подобранных условиях.



доктор биологических наук Ольга Андреевна Степная (1957-2012)

Бактериолитические ферменты - это ферменты, разрушающие пептидогликан – основной структурный компонент клеточных стенок бактерий. На основе культуральной жидкости *Lysobacter* sp. XL1 получен антимикробный препарат широкого спектра действия – лизоамидаза.

Лизоамидаза успешно прошла клинические испытания и разрешена для наружного использования в медицине. Установлено лечебное и профилактическое действие лизоамидазы в отношении сибиреязвенной инфекции, смоделированной у мышей. К настоящему моменту в составе препарата выявлено шесть бактериолитических ферментов, обладающих разной субстратной специфичностью по отношению к пептидогликану конкурентных бактерий.

**В настоящее время научно-исследовательская работа ведется в следующих направлениях:**

- характеристика литических ферментов *Lysobacter* sp. XL1
- изучение путей секреции литических ферментов из клетки продуцента в окружающую среду
- получение и характеристика рекомбинантных штаммов, экспрессирующих литические ферменты *Lysobacter* sp. XL1
- изучение антимикробного и лечебного потенциала препарата лизоамидаза и отдельных литических ферментов комплекса
- отработка технологий получения препарата лизоамидаза и рекомбинантных белков *Lysobacter* sp. XL1

**Некоторые основные результаты последних лет**

**Изучение путей секреции литических ферментов из клетки продуцента в окружающую среду.**

При изучении секреции литических ферментов в окружающую среду обнаружена способность клеток *Lysobacter* sp. XL1 образовывать внешнемебранные везикулы.

Установлено, что посредством везикул штамма XL1 в культуральную среду попадает бактериолитический фермент Л5. Следует отметить, что литический фермент Л1, гомологичный ферменту Л5, использует другую систему секреции.



В настоящее время изучается процесс образования везикул у *Lysobacter* sp. XL1. Методами биохимии и иммуноцитохимии установлено участие секретируемого белка Л5 в этом процессе.

### **Изучение антимикробного и лечебного потенциала препарата лизоамидаза:**

В связи с множественной устойчивостью патогенных микроорганизмов к антибиотикам поиск новых антибактериальных средств является глобальной мировой задачей. Бактериолитические ферменты – одно из таких перспективных средств. Совместно с коллегами из ГНЦ ПМБ (п. Оболенск) было выявлено, что везикулы *Lysobacter* sp. XL1 обладают 100 % лечебным и профилактическим эффектом в отношении различных форм сибиреязвенной инфекции даже при однократной их инъекции. В то время



как доксициклин (традиционно используемый антибиотик для лечения сибирской язвы) не обладал лечебным эффектом даже при пятидневном его применении. Также было установлено, что лечение везикулами стафилококкового сепсиса, вызванного метициллинрезистентным штаммом, приводит к полному выздоровлению экспериментальных животных. Таким образом можно выделить новую перспективу в этом направлении - это создание антимикробных препаратов нового поколения на основе отдельных литических ферментов лизоамидазы, заключенных в искусственные везикулярные структуры - липосомы.

### **Патенты:**

1. Патент US 2009005387 A1. 2009. Schischova N.A., Starizin N.A., Marinin L.I., Stepnaya O.A., Kulaev I.S., Tsfasman I.M., Begunova E.A., Chaika I.A. Agent exhibiting bactericidal action with respect to vegetative and spore cells *Bacillus anthracis*, anthrax preventing and treating method.
2. Патент РФ № 2408725. 2011. Грановский И.Э., Калинин А.Е., Лаптева Ю.С., Латыпов О.Р., Васильева Н.В., Цфасман И.М., Степная О.А., Кулаев И.С., Муранова Т.А., Красовская Л.А. Литическая протеаза AlpB бактерии *Lysobacter* sp. XL1, фрагмент ДНК, кодирующий литическую протеазу AlpB бактерии *Lysobacter* sp. XL1, и способ получения литической протеазы AlpB бактерии *Lysobacter* sp. XL1.



*Заведующий – кандидат  
биологических наук  
Александр Сергеевич  
Солонин*

**Л**аборатория молекулярной микробиологии создана на основании приказа директора Института №101 от «18» мая 2006. К 2015 году опубликовано более 90 статей в отечественных и международных научных журналах, и более 10 патентов Российской Федерации. За это время сотрудники приняли участие более чем в 50 различных всероссийских и международных конференциях.

Солонин Александр Сергеевич, соавтор более 100 статей в отечественных и международных научных журналах, а также десятков патентов Российской Федерации, лауреат премии Ленинского комсомола 1976 года и премии Совета министров СССР 1981 года, обладает бронзовой медалью ВДНХ и медалью СССР “За трудовую отличие”.

В состав лаборатории входит: 5 старших научных сотрудников, 8 научных сотрудников, 1 младший научный сотрудник, 1 ведущий инженер, 3 старших инженера, 1 инженер, 6 старших лаборантов, 3 аспиранта.

Лаборатория молекулярной микробиологии продолжает традиции лаборатории молекулярной биологии и молекулярной генетики микроорганизмов под руководством академика Александра Александровича Баева. В настоящее время лаборатория состоит из 4 научно-творческих групп, каждая из которых участвует в решении одной или нескольких научных задач. Руководителями групп являются старшие научные сотрудники с большим многолетним опытом работы.

**Г**руппа старшего научного сотрудника **Захаровой Марины Викторовны** сосредоточена на исследовании регуляции экспрессии генов систем защиты микроорганизмов от бактериофагов, на изучении механизмов горизонтального переноса генов этих систем и на конструировании организмов - продуцентов биологически активных веществ.

Основными моделями для исследования регуляции экспрессии генов служат гены систем рестрикции – модификации типа II (СРМ). Для всех изученных систем выявлены ключевые элементы регуляции. Приоритетный характер носят данные о зависимости транскрипционной активности промоторов генов системы CfrVI от метилирования цитозинового основания ДНК в области -35 бокса промотора гена ДНК-метилтрансферазы (MT). В СРМ EcoRV обнаружен дополнительный регуляторный белок, который по структуре может быть отнесен к семейству так называемых С-белков. Показано, что этот белок является активатором транскрипции гена эндонуклеазы рестрикции (ЭР).

Исследован характер влияния ДНК MT Ecl18kI на уровень транскрипции генов СРМ Ecl18kI и показано, что активность промотора ЭР регулируется согласно механизму транскрипционной интерференции – механизму «сидячей утки».



Установлено, что в СРМ *Eco29kI* с линейным расположением генов, экспрессия гена ЭР регулируется с помощью антисенс РНК, промоторы которой расположены в структурной части этого гена. Два гена СРМ *Eco29kI* расположены в последовательности – *eco29kIR* → *eco29kIM*. Стоп-кодон гена ЭР рестрикции перекрывается с АТG гена МТ на один нуклеотид. Благодаря такой природной организации генов этой СРМ с помощью сайт-направленного мутагенеза получен и охарактеризован бифункциональный гибридный фермент RM.*Eco29kI*, содержащий обе ферментативные активности в составе одного полипептида. Высказано предположение об использовании этого пути в реальной эволюции различных белков. Все исследованные системы являются представителями СРМ, расположенными на природных мультикоопийных плаزمидах. Плазмиды могут быть перенесены из одних энтеробактерий в другие в присутствии конъюгативных плазмид. Продемонстрирован перенос СРМ с одной плазмиды на другую за счет *hom X* сег рекомбинации, показано существование двух групп последовательностей сег у мультикоопийных плазмид. Сконструированы искусственные системы защиты бактериальной клетки от фаголизиса. В модельных экспериментах была продемонстрирована возможность увеличения устойчивости к инфицированию бактериофагами в 1000 и более раз штаммов – продуцентов биологически активных веществ.

Группа старшего научного сотрудника **Зимина Андрея Антоновича** занимается исследованием генетических основ биоразнообразия кишечных бактериофагов. За последние годы показана трансдукция гена устойчивости к антибиотику плазмидной локализации в лабораторный и природный штаммы *E. coli*, происходящая в кишечнике мыши и сконструирована система для экспериментального изучения событий в системе бактериофаг-бактериальная клетка-лабораторное животное.

Дальнейшее развитие этой системы позволит более подробно исследовать механизм и различные параметры трансдукции плазмид в кишечнике.

В процессе работы изучены параметры трансдукции низкокопийной плазмиды R15 псевдо-Т-четными бактериофагами при оптимизированных условиях, проведены опыты по трансдукции низкокопийной плазмиды R15 псевдо-Т-четными бактериофагами и показано, что изменение метода получения клонов трансдуктантов приводит к повышению частоты трансдукции для фага RB43 до 2,5 на  $10^3$  клонов на одну БОЕ и для RB49 до 1,6 на  $10^5$  клонов на одну БОЕ. Дальнейшая модификация методов трансдукции в лабораторных условиях приводит к повышению частоты относительно полученной ранее.

Исследована возрастная динамика микроэкологической системы *E. coli*; бактерия-фаг-плазида; кишечной нормофлоры свиней. Определён титр коли-бактериофагов в образцах содержимого пищеварительного тракта свиней; проведена молекулярно-генетическая характеристика (методом ПЦР) выделенных 13 фагов; фрагменты геномов 4-х фагов секвенированы. Определён плазмидный профиль всех выделенных штаммов *E. coli*; у одного из штаммов обнаружена плазида, обеспечивающая резистентность к хинолонам. Сделаны выводы, позволяющие составить первичное представление о синхронической картине возрастной динамики количественных и качественных изменений между содержанием кишечной палочки, плазмид, выделенных из штаммов бактерий и фагов *E. coli* в биоматериале пищеварительного тракта исследуемых животных. Создан препарат для фаговой профилактики и фаговой терапии колибактериозов. Проведено испытание этого препарата на поросятах в опытном производстве СКНИИЖ ФАНО. Показаны параметры применения фагового препарата как отдельно, так и в сочетании с пробиотиком.

**Г**руппа старшего научного сотрудника **Андреевой-Ковалевской Жанны Ивановны** исследует пороформирующие токсины *B. cereus* и регуляцию экспрессии их генов при изменении условий окружающей среды. В этой серии работ продолжены исследования, начатые более двадцати пяти лет назад в лаборатории **Николая Петровича Кузьмина** по изучению токсинов *Bacillus cereus*, включая исследование свойств этих токсинов, их генов и регуляции экспрессии этих генов. После клонирования гена гемолизина II *B. cereus* в лаборатории Кузьмина Н. П., была поставлена точка в многолетней дискуссии о существовании этого токсина как отдельного гемолитического фактора. Доказано, что гемолизин II — самостоятельный цитолитический фактор *B.cereus*. Гемолизин II состоит из 412 а.к. остатков, в ходе секреции гемолизина II сигнальная пептидаза отщепляет 31 а.к. остаток с N-конца белка. Анализ первичной аминокислотной последовательности гемолизина II показывает 31,2% идентичности по аминокислотной последовательности с альфа-токсином *Staphylococcus aureus* с дополнительными 94 аминокислотами в C-концевой части гемолизина. Этот токсин способен взаимодействовать с искусственными мембранами с образованием анион-селективных трансмембранных каналов с внутренним диаметром 1,5-2 нм., вызывая деполяризацию цитоплазматической мембраны и гибель клеток-мишеней.

Продемонстрирована возможность атаки дафний и харовых водорослей гемолизином II, которые занимают ту же экологическую нишу, что и *Bacillus cereus*.

Транскрипция гена гемолизина II *B. cereus* репрессируется такими регуляторами как HlyIIR и глобальным транскрипционным регулятором Fur. Последний участвует в регуляции экспрессии гена *hlyII* непосредственно взаимодействуя с участком ДНК, перекрывающим стартовую точку транскрипции этого гена и конкурируя за этот участок с РНК-полимеразой. Ген *hlyIIR* расположен на расстоянии около 300 п.н., непосредственно вслед за геном *hlyII*. Исходя из анализа аминокислотной последовательности и определения его пространственной структуры, было выявлено, что HlyIIR относится к ДНК-связывающим транскрипционным регуляторам семейства Tet/AcrA. Эксперименты по изучению транскрипции *in vitro* показали, что HlyIIR ингибирует транскрипцию с промотора *hlyII* путём связывания с 22 п.н. повтором, центр которого находится на расстоянии 48 п.н. выше стартовой точки транскрипции *hlyII* и РНК-полимеразой и уменьшения образования каталитически компетентного открытого промоторного комплекса. Эффективность транскрипции и возможность ее регулирования за счет HlyIIR также определяется наличием UP-элемента, локализованного выше стартовой точки транскрипции гена *hlyII*. Обнаружена стократное увеличение транскрипции гена гемолизина при выращивании бактерий в присутствии компонентов плазмы крови человека. Способность бацилл цереусной группы образовывать биопленки на внутренней поверхности сосудов, а гемолизинов образовывать поры (дыры) в мембранах эукариотических клеток и преодолевать гликокализный слой этих клеток, позволяет высказать предположение о возможном участии этих микроорганизмов в качестве инициаторов процессов воспаления сосудов и, в конечном итоге, атерогенеза в кровеносных сосудах у человека.

**О**сновным направлением исследований группы старшего научного сотрудника **Ивашиной Татьяны Владимировны** является изучение молекулярных механизмов взаимодействия клубеньковых бактерий с бобовыми растениями, приводящих к установлению азотфиксирующего симбиоза, роли в этом процессе внеклеточных полисахаридов (ЭПС), а также генетического контроля биосинтеза и процессинга ЭПС. На основании комплексного изучения структур ЭПС, структурно-функциональной организации генов биосинтеза ЭПС и их мутационного анализа предложена модель сборки повторяющихся звеньев полимеров у симбиотических бактерий *Rhizobium leguminosarum* *bv. viciae* и *bv. trifolii*. Идентифицированы гены, контролирующие процесс синтеза октасахаридных звеньев ЭПС, их полимеризацию, модификацию, секрецию и процессинг ЭПС с образованием низкомолекулярных форм полисахарида. Выдвинуто предположение о том, что биосинтез ЭПС осуществляется путем сборки высокоорганизованного мембранного мультиферментного комплекса. С использованием флуоресцентной комплементации и биолюминесцентного резонансного переноса энергии продемонстрировано взаимодействие между отдельными компонентами данного биосинтетического комплекса.

С использованием в качестве репортеров флуоресцентных белков и иммунофлуоресцентной микроскопии получены приоритетные данные о локализации мембранных гликозилтрансфераз биосинтеза ЭПС на полюсах клеток, что позволяет заключить, что синтез ЭПС инициируется в определенном компартменте клеток и сопряжен с процессами полимеризации октасахаридных звеньев и секреции ЭПС. Показано, что в инициации биосинтеза ЭПС участвует изопренилфосфатгликозилтрансфераза, кодируемая геном *pssA*. Получены данные, свидетельствующие о том, что белок PssA, по крайней мере у двух близкородственных биоваров, помимо участия в биосинтетических реакциях, является глобальным регулятором экспрессии целого ряда ризобияльных генов. На основании определения N-концевой аминокислотной последовательности предсказаны функции белков с измененным уровнем синтеза, либо синтезируемых *de novo* в штаммах *R. l. bv. viciae* и *bv. trifolii* с мутацией в гене *pssA*. Большинство из генов, кодирующих данные белки, локализованы на эндогенных плаزمидах ризобий. Отсутствие экспрессии гена *pssA* в бактериоидах позволяет предположить, что представители «*pssA*-стимулона» являются белками, синтез которых происходит в симбиотическом состоянии бактерий. Изучение мутантов с нарушенным синтезом ЭПС, позволило не только подтвердить гипотезу о существовании мультиферментного комплекса, но и установить, что для формирования эффективного симбиоза существенны как структура, так и уровень синтеза ЭПС. Получены приоритетные данные о важности пирувиллирования ЭПС в симбиозе. Исследование ультраструктуры клубеньков, индуцируемых штаммом с мутацией в гене кеталь пирувиллтрансферазы PssM, позволило заключить, что модификация ЭПС важна на стадии биогенеза бактериоидов. Сделано предположение, что немодифицированный полисахарид не подвергается гидролизу полисахаридгидролазами, и, как следствие, не выполняет роль сигнального фактора при дифференцировке бактерий в азотфиксирующие органеллы – симбиосомы. С целью изучения механизмов образования низкомолекулярных форм ЭПС и их функций в симбиозе проводятся детальные исследования гликозигидролаз и полисахаридлиаз ризобий.

**Л**абора́тория энзимологии генетических процессов входит в состав отдела молекулярной биологии ИБФМ РАН. Она была образована в 2013 г. на основе возглавляемой Игорем Эдуардовичем Грановским исследовательской группы, входившей в состав лаборатории молекулярной микробиологии. В составе лаборатории заведующий лабораторией, два старших научных сотрудника, научный сотрудник, ведущий инженер, старший инженер и два старших лаборанта. Пять сотрудников лаборатории имеют ученую степень кандидата наук.

Лаборатория специализируется на фундаментальных и поисковых исследованиях в области молекулярной биологии и генетики вирусов. Исследования проводятся по двум основным направлениям: изучение механизмов генетической рекомбинации при репарации двунитевых разрывов ДНК (ДНР); разработка новых подходов по приданию сельскохозяйственным животным устойчивости к вирусным инфекциям на клеточном уровне.



*Заведующий –  
кандидат биологических  
наук Игорь Эдуардович  
Грановский*

### ***Исследование механизмов генетической рекомбинации при репарации ДНР***

Генетическая рекомбинация и репарация повреждений ДНК являются одними из фундаментальных клеточных процессов. Основные пути генетической рекомбинации и репарации схожи как у бактерий, так и эукариотических организмов. Они лежат в основе целого ряда важных метаболических процессов клетки, таких как поддержание стабильности хромосом, обеспечения наследственной изменчивости, регуляция клеточного цикла. Бактериофаг Т4 является удобной моделью для изучения механизмов генетической рекомбинации. Он использует собственный репликационный и рекомбинационный аппарат, для фага Т4 разработана система генетического анализа, кроме того в геноме Т4 имеются гены хоминг-эндонуклеаз. В отделе молекулярной биологии проводились многолетние исследования хоминг-эндонуклеаз группы Seg фага Т4: установлены сайты узнавания и гидролиза этих ферментов, охарактеризованы биохимические свойства, исследовано распространение генов этих ферментов, а также установлена их роль в генетическом обмене между Т4-родственными бактериофагами.

Опираясь на результаты этих исследований, на основе фага Т4 нами была сконструирована модель для изучения механизмов репарации ДНР. Данная модель основывается на внесении при помощи хоминг-эндонуклеазы уникального разрыва в *rII*-локус фага Т4. В сочетании с обширной коллекцией *rII*-мутантов, а также фагов с мутациями по генам, вовлеченным в репликацию и рекомбинацию, это позволило изучить различные параметры репарации ДНР. В частности, была детально исследована зависимость рекомбинации от расстояния от точки разрыва, роль экзонуклеаз в этом процессе, зависимость рекомбинации от функции отдельных генов репликационного/рекомбинационного аппарата.



На основании проведенных исследований были предложены модели, описывающие различные пути репарации ДНР у фага T4. Данные исследования проводятся в сотрудничестве с лабораторией молекулярной генетики Института проблем химической физики РАН.

***Разработка новых подходов по приданию сельскохозяйственным животным устойчивости к вирусным инфекциям на клеточном уровне***

Необходимость разработки новых подходов к профилактике инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных обусловлена существенным экономическим ущербом, который наносится эпизоотиями, вызываемыми высоко контагиозными вирусными инфекциями. В связи с этим, в мировой науке активно развивается направление, связанное с получением пород сельскохозяйственных животных, обладающих устойчивостью к инфекционным заболеваниям на генетическом уровне. Это новое направление исследований, работа по которому была начата вскоре после создания лаборатории.

Исследования проводятся на модели ДНК-содержащих вирусов, вируса осповакцины семейства *Poxviridae* и вируса африканской чумы свиней семейства *Asfarviridae*. Несмотря на то, что вирусы АЧС и ОВ относятся к разным семействам, у них имеется ряд общих черт. Геномы этих вирусов представлены большой двунитевой ДНК; они кодируют собственные ферменты для репликации и транскрипции; начальная стадия репликации этих вирусов происходит в перинуклеарном пространстве, а затем репликация продолжается в цитоплазме, в так называемых вирусных фабриках. Кроме того, оба вируса кодируют собственную протеазу, которая экспрессируется в ходе инфекционного цикла, а также является компонентом кора вириона. Протеаза необходима этим вирусам для процессинга предшественников коровых белков вириона, а также на ранних стадиях инфекции. Краткосрочная цель данного проекта заключается в изучении возможности использования вирусных протеаз для запуска клеточного ответа на вирусную инфекцию у млекопитающих, что, в результате будет приводить к активации апоптоза или деградации генетического материала вируса. Успешная реализация данного проекта позволит создавать породы сельскохозяйственных животных, устойчивых к определенным вирусным инфекциям.



Лаборатория организована в 1973 году. За годы работы проведены фундаментальные исследования бактериальных плазмид: их молекулярно-генетической организации, функционального значения для клеток микроорганизмов, роли в микроэволюции бактерий. Разработана система классификации плазмид биодegradации псевдомонад. Изучено распространение и разнообразие плазмид бактерий рода *Pseudomonas*.

В составе лаборатории 1 доктор биологических наук и 15 кандидатов биологических наук. Кроме того, в лаборатории работают магистранты и 3 аспиранта. Исследована резистентность к лекарственным препаратам более тысячи клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, а также бактерий, выделенных из неочищенных сточных вод антибиотических производств. Показано, что устойчивость к антибиотикам большинства штаммов обусловлена наличием в них конъюгативных R плазмид. Изучены особенности механизма устойчивости к тетрациклину некоторых плазмид резистентности.

В последние годы основными направлениями работы лаборатории являются исследования структурно-функциональной организации генетических систем микроорганизмов, а также биодegradации углеводородов нефти и детоксикации тяжелых металлов микроорганизмами и растениями.

Исследованы биохимические пути и генетический контроль биодegradации полициклических ароматических углеводородов штаммами ряда микроорганизмов. Изучено распространение плазмид, контролирующих биодegradацию углеводородов нефти (D плазмид). Исследована детальная организация базовых репликонов плазмид, относящихся к важным с экологической точки зрения группам несовместимости: P-7 и P-9. Описан новый оперон биодegradации салицилата через гентизиновую кислоту (*sgp* – оперон) в составе катаболической плазмиды, контролирующей утилизацию нафталина. Исследовано разнообразие ключевых генов биодegradации полициклических ароматических углеводородов. Показано, что способность к использованию капролактама у бактерий рода *Pseudomonas* контролируется конъюгативными плазмидами. Предложена схема трансформации линейных олигомеров капролактама (олигомеров нейлона) псевдомонадами.

Впервые установлено, что генетические детерминанты биодegradации капролактама и салицилата у штаммов псевдомонад находятся в составе крупных конъюгативных SAL/CAP плазмид.



Заведующий –  
член корреспондент  
РАН Александр  
Михайлович Боронин



Работа лаборатории по второму направлению позволила на основании всесторонних исследований большой коллекции микроорганизмов – нефте-деструкторов разработать биопрепарат «МикроБак», предназначенный для улучшения и восстановления почв, водоемов и акваторий от загрязнений нефтью и нефтепродуктами. Зарегистрирована торговая марка препарата.

Проведены генетические, биохимические и молекулярно-биологические исследования уникальной коллекции ризосферных бактерий рода *Pseudomonas*, относящихся к группе PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria), перспективной для разработки биопрепаратов для защиты растений и фиторемедиации почв.

Помимо подавления почвенных фитопатогенов благодаря биосинтезу антибиотических соединений PGPR *Pseudomonas* способны к стимуляции роста растений за счет растворения фосфатов, а также синтеза сидерофоров и различных регуляторов роста растений. В результате исследований молекулярно-биологических механизмов взаимодействия PGPR *Pseudomonas* с фитопатогенными микроорганизмами и растениями разработан коммерческий биопрепарат для защиты растений, зарегистрированный в России под названием «Псевдобактерин-2». Сконструированы мультиплазмидные штаммы ризосферных псевдомонад, несущие плазмиды биodeградации нафталина/фенантрена, плазмиды устойчивости к арсениту/арсенату и тяжелым металлам (Ni, Co, Zn, Cd). Разрабатываются новые фиторемедиационные стратегии и технологии для борьбы с комплексными загрязнениями почв с использованием плазмидосодержащих вариантов PGPR *Pseudomonas*, стимулирующих рост растений, способных к биodeградации ксенобиотиков и увеличивающих биоаккумуляцию поллютантов растениями.

Сотрудниками лаборатории опубликовано более 300 статей в отечественных и зарубежных журналах. Получено более 10 патентов на изобретения. Сотрудники лаборатории ежегодно участвуют в научных конференциях. За последние годы выполнены работы по более чем 20 российским и международным проектам.



Торговая марка Биопрепарат  
«МикроБак»

**Л**аборатория микробной энзимологии создана в 2004 г. В составе лаборатории 2 старших научных сотрудника, 4 научных сотрудника, младший научный сотрудник, инженер, старший лаборант. Кроме того, в работе лаборатории в настоящее время участвуют 1 аспирант и 3 магистранта.

### Направление исследований

#### *Изучение структуры и функций микробных ферментов катаболизма органофосфонатов и лигноцеллюлозы*

Работа проводится с целью изучения свойств специфических и неспецифических ферментных систем бактерий и грибов в процессе адаптации микроорганизмов к использованию устойчивых соединений природного и неприродного происхождения в качестве источников питания, а также для использования генетического и метаболического потенциала микроорганизмов и их сообществ в биотехнологиях очистки загрязненных природных объектов (почвы, водных источников), для разложения устойчивых соединений и катализа реакций в химическом синтезе



Заведующий - доктор биологических наук  
Алексей Аркадьевич  
Леонтьевский

### Основные результаты

#### *Катаболизм органофосфонатов*

- Создана коллекция штаммов почвенных бактерий-деструкторов органофосфонатов - метилфосфоновой кислоты и гербицида глифосата;
- Доказано наличие не менее двух разновидностей С-Р лиазы с разной субстратной специфичностью - метилфосфонат-специфичной С-Р лиазы I и глифосат-специфичной С-Р лиазы II у почвенных бактерий;
- Обнаружен новый «фосфонатазный» путь катаболизма гербицида глифосата, реакции которого последовательно катализируются ферментами глифосат-оксидоредуктазой, аминометилфосфосфонат-аминотрансферазой и фосфоноформиат-гидролазой. Все они были выделены, очищены до электрофоретически гомогенного состояния и охарактеризованы по кинетическим и каталитическим свойствам (на примере бактерий *Ochrobactrum anthropi* GPK3);
- Составлена схема распределения «фосфонатазного» и С-Р лиазных (С-Р лиаза I и С-Р-лиаза II) ферментных систем катаболизма фосфонатов у разных почвенных бактерий и взаимодействие последних в условиях загрязнения глифосатом, используемом как источник фосфора;
- Впервые разработан и успешно испытан в полевых условиях способ биоремедиации почвы, загрязненной гербицидом глифосатом, при интродукции в нее селекционированных штаммов бактерий с полной минерализацией загрязнителя и восстановлением биологических и токсикологических свойств почвы;



### *Катаболизм лигноцеллюлозы*

- Впервые обнаружены лакказы у лишайников, очищены и охарактеризованы моно- и димерные лакказы из лишайника *Solorina crocea*;
  - Проведен скрининг грибов-продуцентов лигнинолитических лакказ, из наиболее активного штамма *Cerrena unicolor* выделены и охарактеризованы две изоформы (термостабильная и нетермостабильная) лакказы, включая трехмерное моделирование, идентифицированы и охарактеризованы соответствующие гены;
- 
- Идентифицированы гены двухдоменных и трехдоменных лакказ бактерий рода *Streptomyces*, созданы продуценты термостабильных двухдоменных рекомбинантных лакказ нечувствительных к ряду типичных ингибиторов лакказ и способных работать при нейтральном значении pH и температуре до 100 °C;
  - Рекомбинантные лакказы штаммов были закристаллизованы (совместно с Институтом белка РАН), по результатам РСА рассчитаны трехмерные структуры активных центров с разрешением 2,4-2,7 Å. Впервые обнаружено необычное место связывания азид-натрия в активном центре двухдоменных лакказ, что объясняет нечувствительность лакказ такого типа к типичным ингибиторам. Впервые обнаружена необычная форма канала для поступления O<sub>2</sub> и выхода H<sub>2</sub>O, отличная от классических лакказ грибов;
  - На основе сополимера 2,5-дигидроксibenзойной кислоты и желатина, синтезированного с помощью лакказы гриба *C. unicolor*, и имитирующего природный лигнин, разработан и охарактеризован новый противовирусный препарат, эффективный против вирусов альфа-герпесной группы (совместно с Институтом биофизики клетки РАН)
  - Разработан ферментный препарат для кормообработки на основе ксиланазы бактерии рода *Streptomyces*;
  - Разработан первый в РФ способ получения препаратов технических ферментов на основе технологии «быстрого скрининга генов» (совместно с лабораториями молекулярной микробиологии и биосинтеза ферментов ИБФМ РАН)

**Л**аборатория масс-спектрометрии была организована в 1975 году и продолжает масс-спектрометрические исследования в микробиологии, начатые в ИБФМ РАН с 1967 года.

В составе лаборатории 2 старших научных сотрудника, 1 научный сотрудник, 2 ведущих инженера, 2 старших лаборанта, 1 техник.

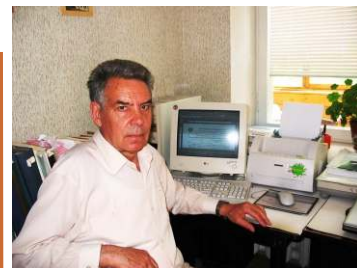
**Основные научные исследования, проводимые в лаборатории:**

Методы масс-спектрометрии служили технологической основой при решении плановых научно-исследовательских задач по двум направлениям: **биотехнология** (определение источников и масштабов органических и минеральных продуктов, загрязняющих окружающую среду (воздух, почвы); роль нативной и интродуцированной в природные и искусственные биосистемы микробиоты при биодegradации и трансформации органических поллютантов; характеристика взаимодействия микроорганизмов и растений в процессах детоксикации антропогенных соединений);

**биомедицина** (разработка неинвазивных методов диагностики углеводно-липидного обмена у высших животных и человека (сахарный диабет, ожирение); определение степени микробного заселения желудочно-кишечного тракта человека на примере бактерий *Helicobacter pylori*, способствующих появлению гастритов и язвенных заболеваний, влияние хеликобактерной инфекции на аллергические заболевания).

**Наиболее важные достижения лаборатории:**

1. Теоретически и экспериментально разработаны методы количественного анализа микробной продукции и потребления радиационно - активных газов (метан, углекислота, дихлорметан), которые способствуют проявлению парникового эффекта. С использованием методов масс-спектрометрии предложен контроль микробного окисления метана при реализации микробиологического способа снижения концентрации метана в атмосфере угольных шахт. Впервые дана оценка роли микроорганизмов в потоках метана из антропогенных источников. На примере анализа процессов микробной метангенерации и метаноокисления на свалке твердых бытовых отходов от 350-тысячного города (г. Калуга) показано, что продукция метана превышает 3 млн. м<sup>3</sup> в год, лишь 25 - 40 % метана окисляется микроорганизмами, а остальная его часть поступает в атмосферу.
2. С использованием молекулярной и изотопной масс-спектрометрии разработаны методы оценки метаболической активности микробиоты в пахотных и лесных почвах, являющихся характеристиками состояния почвенных экосистем. Показано, что наряду с активным потреблением легко метаболизируемого вещества (например, углеводы и др.) почвенная микробиота увеличивает деградацию нативного почвенного вещества (прайминг-эффект) и эмиссию CO<sub>2</sub> в атмосферу.



*Заведующий –  
доктор биологических  
наук Анатолий Маркович  
Зякун*



3. Изучена роль почвенных и интродуцированных в почву микроорганизмов в процессах деградации углеводов нефтяных разливов (сырая нефть, нефть старых разливов). Впервые показано, что микробная деградация нефти в почвах сопровождается разрушением нативного почвенного органического вещества (ПОВ) (прайминг-эффект), а также происходит частичная замена ПОВ углеводородами нефти и продуктами их микробной трансформации. Следствием этих процессов является увеличение эмиссии  $\text{CO}_2$  в атмосферу из почвы.

4. Проведены исследования по микробной трансформации и деградации экологически опасных полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) (нафталин, антрацен, фенантрен). Впервые показано токсическое влияние

нафталина как представителя ПАУ на растения, растущие в стерильных условиях, и на растения, инокулированные микроорганизмами, которые способны деградировать нафталин, а также микроорганизмами, не обладающими такой способностью. Полученный результат имеет принципиальное значение для понимания роли микроорганизмов в охране окружающей среды от действия ксенобиотиков.

5. Процессы фотосинтеза играют основную роль стоков атмосферной углекислоты, а также при фитодеградации ксенобиотиков. Разработаны и экспериментально проверены методы оценки биологической фотопродукции кислорода, водорода и потребления  $\text{CO}_2$ , дана оценка роли температурных факторов в этих процессах.

6. Использование стабильных изотопов углерода и кислорода явилось основой практического применения методов определения метаболической активности макро- и микроорганизмов. На базе масс-спектрометрии был разработан экспресс-метод неинвазивной диагностики бактерий *H. pylori* в организме человека. Показано, что около 70 % аллергических заболеваний у детей инициированы хеликобактерной инфекцией. По изотопному составу выдыхаемой  $\text{CO}_2$  человека впервые был предложен метод неинвазивного выявления как нарушений углеводного обмена, так и их потенциальной опасности (сахарный диабет и ожирение).

7. Разработаны теоретические основы анализа внутримолекулярной изотопной неоднородности полиизотопных элементов, содержащихся в нескольких положениях в молекуле (изотопологи и изотопомеры). Предложенный подход открывает новые возможности в изучении механизмов и путей биотрансформации органических молекул.

За последние 10 лет представлено 35 публикаций, из которых 15 сообщений опубликованы в отечественных и 20 сообщений в зарубежных журналах.

**Л**аборатория, созданная в 2001 г., начала развивать пионерские в стране работы по созданию научных основ и разработке аналитических биосенсорных устройств на основе микробных клеток и ферментов. В составе лаборатории 4 научных сотрудника, 2 инженера, аспирант, старший лаборант.

Для реализации поставленных задач проводились фундаментальные исследования по изучению свойств и метаболизма микробных клеток, их эффективности для детекции широкого спектра соединений (продуктов ферментационных процессов, ксенобиотиков). Проводились исследования, связанные с биоэлектроникой, разработкой новых конструкций биосенсоров специальными видами анализа. В качестве основы рецепторных элементов использованы различные типы биологического материала – микроорганизмы, ферменты и ферментные системы, антитела и антигены, нуклеиновые кислоты.

В качестве преобразователей - электроды типа Кларка; электроды, полученные матричной печатью; электроды, модифицированные графитовыми наноматериалами; ион-селективные (рН-чувствительные) полевые транзисторы. Для исследования механизмов генерации сигналов применялась импедансная спектроскопия.

На реальных примерах показана возможность эффективного использования биосенсорного подхода, основанного на измерении дыхательной активности иммобилизованных клеток микроорганизмов для достоверной характеристики окислительных свойств микробных штаммов – быстрого и эффективного метода для использования в микробиологических исследованиях.

Результаты фундаментальных исследований легли в основу создания практически значимых биоаналитических устройств. Разработаны лабораторные образцы биосенсоров:

- для анализа сахаров (глюкоза, ксилоза, арабиноза), этанола (биоэтанола), метанола, уксусной кислоты, крахмала;
- универсальный биосенсорный анализатор для контроля всех стадий производства этанола;
- разработаны биосенсоры для анализа загрязнения водных сред дихлорметаном, этилендиамин-тетраацетатом (ЭДТА), метиламином, диметиламином и триметиламином, тиодигликолем - продуктом гидролиза иприта;
- разработан не имеющий аналогов биосенсорный мониторинг ферментационного процесса получения уксусной кислоты из спиртосодержащих продуктов;
- принцип иммуносенсорного анализа, реализованный в биосенсорном варианте, использован для детекции симазина.



*Заведующий – доктор химических наук, профессор, Заслуженный деятель науки и техники Моск. обл., действ. член общественной Академии инженерных наук им А. М. Прохорова  
Анатолий Николаевич Решетилов*



В последние годы усилия лаборатории направлены на создание основы для разработки возобновляемых биотопливных элементов (БТЭ), в частности, микробных биотопливных элементов - «живых генераторов».

Впервые в макете БТЭ в качестве биоматериала использованы мембранные фракции бактерий рода *Gluconobacter*, представляющие конгломераты RQQ-зависимых дегидрогеназ. Мембранные фракции иммобилизованы на электроды, полученные из графеноподобного наноматериала (терморасширенного графита), что позволило получить БТЭ с удвоенной удельной мощностью ( $\sim 10$  мкВт/см<sup>2</sup>) по сравнению с контрольной. секвенирования.

Впервые в макете БТЭ в качестве биоматериала использованы мембранные фракции бактерий рода *Gluconobacter*, представляющие конгломераты RQQ-зависимых дегидрогеназ. Применение мембранных фракций позволило получить БТЭ с удвоенной удельной мощностью ( $\sim 10$  мкВт/см<sup>2</sup>) по сравнению с контрольной. Впервые для БТЭ создан макет по накоплению электрической энергии с помощью конвертера постоянного напряжения. Созданные макеты определяют возможный путь миниатюризации БТЭ и его практического использования.

Для характеристики БТЭ применяется электрохимический метод исследования – измерения выполняются с помощью импедансной спектроскопии.

Впервые реализован биосенсорный метод регистрации модельного (нематричного) синтеза ДНК, осуществляемого двумя ферментами - ДНК-полимеразой и никующей эндонуклеазой. Применены электрохимические преобразователи – рН-чувствительные транзисторы, регистрирующие синтез ДНК, который сопровождается закислением среды. Данный подход перспективен для разработки отечественных анализаторов синтеза ДНК и ее секвенирования.

**Общее количество публикаций** сотрудников лаборатории - 245, из них 9 монографий и глав в книгах, 3 учебных пособия, 21 патент. Коллектив лаборатории награжден Дипломом МАИК «Наука/Интерпериодика» за лучшую публикацию 2012 г.

На базе лаборатории защищена 1 докторская и 8 кандидатских диссертаций. За последние годы исследования поддерживались 3 грантами РФФИ, 5 госконтрактами Минобрнауки (ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России», ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса»). Разработки награждены многочисленными медалями и дипломами российских и международных выставок



**Л**аборатория энзиматической деградации органических соединений была организована в 1980 году на базе группы Отдела микробной деградации органических соединений, возглавляемого Г.К. Скрябиным.

В составе лаборатории 1 ведущий научный сотрудник, 3 старших научных сотрудника, 1 научный сотрудник, 1 старший инженер, 1 инженер, 1 магистрант, 1 дипломник, 1 старший лаборант.

### Основные направления

Микробная трансформация чужеродных соединений с целью получения ценных соединений, биохимия микроорганизмов, молекулярные и энзиматические механизмы деградации устойчивых поллютантов, структура ферментов (моно- и диоксигеназы, изомеразы, дегалогеназы, лакказы), защита окружающей среды.

### Основные результаты

Предложен метод оценки биодоступности полиароматических углеводородов в почвах, донных осадках и других средах. Метод основан на сравнении скорости биodeградации контаминанта в исследуемом образце со скоростью биodeградации его дейтерированного аналога, растворенного в водной фазе. Метод применен для оценки биодоступности фенантрена в экстракте каменноугольного пека и донном осадке из очистных сооружений коксохимического завода (Biodegradation, 2011).

Показана перспективность использования бактерий рода *Rhodococcus* для биологической очистки почв и воды, загрязненных устойчивыми поллютантами (фенол, бензоат, 3-хлорбензоат, 2,4-дихлорфенол, 2,4,6-трихлорфенол, ТНТ).

Разработаны способы значительного повышения выхода лакказной активности базидиальных грибов путем оптимизации условий их культивирования, выделены и детально охарактеризованы 7 лакказных изоформ из базидиальных грибов *Panus tigrinus*, *Steccherinum ochraceum* и *Lentinus strigosus*, три из которых (штамм *S. ochraceum*) имеют необычайно высокую стабильность при 60-80°C, в органических растворителях и при различных рН.

Совместно с исследователями ИНМИ РАН разработан способ направленного изменения активности и субстратной специфичности метилкатехол 1,2-диоксигеназы(МК1,2)-фермента с широкой субстратной специфичностью и катехол1,2-диоксигеназы(К1,2ДО) -фермента с узкой субстратной специфичностью - внесением соответствующих модифицирующих добавок.

Показано, что введение стадии покоя в жизненный цикл *Rhodococcus opacus* 1СР значительно расширяет его биodeградативный потенциал: штамм разлагал ряд ди- и трихлорфенолов, которые ранее не являлись ростовыми субстратами. Таким образом, введение стадии покоя может явиться новым способом получения активных штаммов-деструкторов устойчивых поллютантов (J Environm Sci Health Part B, 2011).



Заведующая – доктор биологических наук, профессор, Заслуженный деятель науки РФ Людмила Алексеевна Головлева



Клонированы гены двух гидроксимирующих диоксигеназ штамма *Sphingomonas* sp. VKM B-2434, установлены их нуклеотидные последовательности и осуществлен филогенетический анализ. Проведено моделирование трехмерной структуры каталитических субъединиц, а также клонирование электрон-переносящих компонентов диоксигеназной системы с целью ее гетерологической экспрессии (Biodegradation 2014).

Впервые в мире закристаллизованы и расшифрованы нативные структуры двух ферментов из группы хлоркатехол 1,2-диоксигеназы: 3-хлоркатехол- и 4-хлоркатехол 1,2-диоксигеназ штамма *R. opacus* 1CP (Acta Crystallogr D 2002, 2003; J Biol Chem 2004; J Mol Biol 2006).

Впервые в мире получены в кристаллическом виде и расшифрованы комплексы одного из ферментов группы хлоркатехол 1,2-диоксигеназ – 4-хлоркатехол 1,2-диоксигеназы штамма *R. opacus* 1CP (с 3,5-дихлоркатехолом, протокатехатом, гидроксигидрохиноном и пирогаллолом) (J Struct Biol, 2013a). Полученные данные внесли значительный вклад в понимание специфического механизма каталитического расщепления хлорированных катехолов.

Впервые в мире расшифрованы структуры нативной классической катехол 1,2-диоксигеназы из грамположительного штамма *R. opacus* 1CP и ее комплексов с субстратами: 3-хлор-, 4-хлор-, 3-метил-, 4-метил-, 3,5-дихлор-, 4,5-дихлоркатехолами, протокатехатом и пирогаллолом (J Struct Biol 2010).

Применен уникальный подход в исследовании структуры ферментов (на примере хлоркатехол 1,2-диоксигеназ), заключающийся в сравнительном анализе реакционной способности ингибиторов и каталитической активности ферментов в комплексах с ингибиторами (J Mol Cat B 2010).

С помощью рентгеноструктурного анализа и математического моделирования впервые в мире расшифрованы нативные и в комплексах с субстратами структуры ключевых ферментов пути разложения 2-хлорфенола штаммом *Rhodococcus opacus* 1CP: 2-хлормуконатциклоизомеразы и 5-хлормуконолактон дегалогеназы. Полученные данные позволили детально расшифровать механизм дегалогенирования хлорированных интермедиатов разложения хлорароматических соединений микроорганизмами (J Struct Biol, 2013b; Biochim Biophys Acta, 2014).

Клонированы и секвенированы гены, а также расшифрованы структуры двух лакказ из *P. tigrinus* и *S. ochraceum*. На примере лакказы гриба *S. ochraceum* впервые зафиксировано в ходе облучения кристаллов рентгеновским излучением при разной длине экспозиции наличие в активном центре двух ранее предполагаемых интермедиатов восстановления молекулярного кислорода, что внесло значительный вклад в понимание механизма восстановительного расщепления O-O связей в целом (J Inorg Biochem 2012).



Заведующая – доктор  
биологических наук  
Марина Викторовна  
Доновна

**Л**аборатория микробиологической трансформации органических соединений создана в 1989 г.; до 1993 г. Лаборатория называлась «Иммобилизованные микроорганизмы», в 1993 г. получила свое нынешнее название. В лаборатории работают: 6 старших научных сотрудников, 3 научных сотрудника, 2 младших научных сотрудника, 4 старших лаборанта, аспиранты и магистранты.

**Основные направления научной деятельности** лаборатории связаны с изучением микробного разнообразия, генетической и метаболической инженерией микроорганизмов – продуцентов активных фармацевтических ингредиентов, исследованием ферментных систем микроорганизмов, осуществляющих ключевые реакции модификации широкого спектра природных и синтетических стероидов – андростанов, прегнанов, стеринов, неконъюгированных желчных кислот, а также созданием биопроцессов и технологий полного цикла получения фармацевтических субстанций и интермедиатов.

Создана и активно пополняется обширная рабочая коллекция штаммов актинобактерий и микромицетов – биокатализаторов ключевых этапов производства фармацевтических стероидов и интермедиатов их синтеза. На основе системного анализа выявлены штаммы с уникальными биокаталитическими возможностями, осуществляющие реакции регио- и стереоспецифического гидроксирования, дегидрирования, дезацетилирования, лактонизации, восстановления, дегградации боковой цепи стеринов, прегнанов, андростанов и желчных кислот.

Получены приоритетные данные об особенностях функционирования стероидтрансформирующих ферментных систем актинобактерий и взаимодействия липофильных субстратов с клеточной поверхностью.

Осуществлено полногеномное секвенирование, сборка и сопоставительный анализ полных геномов штаммов быстрорастущих микобактерий - продуцентов 3,17-дикетоандростанов, идентифицированы ключевые гены стероидного катаболизма и выявлены потенциальные мишени для создания перспективных промышленных биокатализаторов нового поколения. С помощью полнотранскриптомного секвенирования идентифицированы ситостерининдуцируемые гены у штамма – продуцента 9-гидроксиандростендиона. Получена последовательность полного генома актинобактериального штамма *Nocardioides simplex* VKM Ac-2033D – эффективного микробного катализатора 3-кетостероид-1(2)-окисления, способного к эффективному восстановлению карбонильных групп при C-17 и C-20, гидролизу ацетилированных стероидов и утилизации природных стеролов. Все полученные результаты носят приоритетный характер.



Впервые созданы трансгенные штаммы микобактерий, экспрессирующие *in-vivo* функционально активные P450-системы стероидогенеза млекопитающих. Получен рекомбинантный штамм микобактерий, продуцирующий прогестерон из природных стероидов (холестерина и фитостерина).

Разработан комплекс технологий химико-микробиологического синтеза фармацевтических субстанций галоидкортикоидов из возобновляемого растительного сырья – фитостерина и стеринсодержащих промышленных отходов, обеспечивающих производство полного цикла – от растительного сырья до конечных фармацевтических субстанций.

При этом ряд биотехнологических стадий был масштабирован до опытно-промышленного уровня (2000 л). Оформлен комплект научно-технической документации (опытно-промышленный и 5 лабораторно-технологических регламентов). Внедрение данной технологии обеспечит реальное импортозамещение по целой группе жизненно-необходимых фармацевтических соединений.

Мировой новизной, изобретательским уровнем и промышленной значимостью обладают также другие разработки Лаборатории: химико-микробиологический синтез эксеместана – эффективного препарата для терапии гормонозависимых форм рака молочной железы, микробиологические способы получения урсодезоксихолевой кислоты, используемой в терапии желчекаменной болезни, холецистита и других заболеваний в гастроэнтерологии, а также биопроцессы получения ключевых интермедиатов синтеза ряда высоковостребованных кортикостероидов, нейростероидов и дельтаноидов.

### **Сотрудничество, партнерство, кооперация**

Лаборатория имеет обширные научные связи и активно сотрудничает с различными российскими и зарубежными научными организациями и компаниями: МГУ им. М.В. Ломоносова (Химический факультет, Факультет биоинформатики и биоинженерии, НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского), Istituto di Chimica del Riconoscimento (Милан, Италия), Prodotti Chimica Alimentari, University of York (UK), NIH (США), The Asociación de Investigación INBIOTEC Instituto de Biotecnología de León, (Испания), и др., а также R&D компаниями из Германии, Финляндии, Норвегии, Японии, Южной Кореи, Индии, Китая и др. Сотрудники лаборатории принимают активное участие в Международных и Российских научных конференциях и симпозиумах, выступая с устными и постерными докладами.

**Л**аборатория сформирована как лаборатория биосинтеза биологически активных соединений в 1988 г. В 1998 г. переименована в лабораторию вторичных метаболитов. В составе лаборатории 2 кандидата биологических наук, старший научный сотрудник, старший лаборант.

**Основные направления исследований:**

Исследования лаборатории посвящены изысканию микроорганизмов – продуцентов вторичных метаболитов (экзометаболита), перспективных в качестве биологически активных соединений (БАВ), а также изучению их физиолого-биохимических характеристик. Разработка методов выделения и очистки, установление строения и идентификация наиболее важных соединений, их мониторинг составляют необходимую и органическую часть деятельности лаборатории. Лаборатория организована в 1973 году. За годы работы проведены фундаментальные исследования бактериальных плазмид: их молекулярно-генетической организации, функционального значения для клеток микроорганизмов, роли в микроэволюции бактерий. Разработана система классификации плазмид–биодеградаций псевдомонад. Изучено распространение и разнообразие плазмид бактерий рода *Pseudomonas*.

**Основные результаты:**

Разработан оригинальный подход, позволяющий оценивать уровень азотсодержащих компонентов экзометаболита различной природы в клетках и в фильтрате культуральной жидкости микроскопических грибов.

В основу стратегии поиска новых продуцентов БАВ были положены следующие принципы: таксономическое положение штамма, позволяющее считать его креативным для синтеза вторичных метаболитов; специфическое местообитание штамма, в том числе, принадлежность к региону, из которого ранее уже были выделены продуценты и необычные, практически неизученные местообитания, уникальные по своей природе (орбитальная станция «Мир», регионы вечной мерзлоты в Арктике). Проведено обследование более 400 штаммов грибов, выделенных из различных местообитаний и относящихся к родам *Aspergillus* и *Penicillium*. Всего было выделено и очищено 141 метаболитов. Из них 26 новые, неизвестные ранее соединения. Их строение было установлено с помощью химических и физико-химических методов.

Установлено, что наряду с известными вторичными метаболитами, изученные штаммы грибов продуцируют широкий спектр индольных соединений, в том числе эргоалкалоидов, хинолиновых и бенздиазепиновых алкалоидов, дикетопиперазинов, относящихся к БАВ.

Исследовано влияние условий культивирования (состава среды, способа выращивания, температуры) на рост и развитие культур-продуцентов в связи с синтезом компонентов экзометаболита. Показано, что реализация биосинтетических способностей грибов определяется вышеуказанными параметрами.



*Заведующий – доктор биологических наук, лауреат премии Совета Министров СССР, кавалер Ордена Дружбы народов Анатолий Григорьевич Козловский*



Установлено, что циклический характер биосинтеза и деградации низкомолекулярных азотсодержащих вторичных метаболитов является закономерностью для грибов рода *Penicillium*.

Исследованы механизмы экскреции и транспорта на разных стадиях биосинтеза метаболитов дикетопиперазиновой природы и эргоалкалоидов по ходу роста и развития продуцентов. Подробно изучены пути биосинтеза наиболее важных метаболитов, а также основные механизмы их регуляции.

Получены экспериментальные данные свидетельствующие в пользу существования кластеров генов вторичного метаболизма у изученных культур-продуцентов. Так, по-видимому, у них имеются кластеры генов синтеза эргоалкалоидов - ЭАС-кластер, отвечающий за синтез эргоалкалоидов и ХА - кластер, контролирующий путь синтеза хинолиновых алкалоидов.

В течение многих лет проводились исследования по созданию надежной платформы для дальнейшего развертывания теоретических и прикладных работ в области вечной мерзлоты. Работы осуществляли на образцах, полученных из вечной мерзлоты, и на стыке наук таких как микробиологии, биохимии и физиологии микроорганизмов, палеонтологии, биоорганической химии и химии природных соединений. Основные тезисы платформы недавно опубликованы в виде главы в книге: *Penicillium* fungi from permafrost: biosynthesis of secondary metabolites, peculiarities of growth and development // Permafrost: Distribution, Composition, and Impact on Infrastructure and Ecosystems / Ed. O.S. Pokrovsky. New York: Nova Science Publishers, 2014. P. 265-280. Приведены аналитические данные о вторичных метаболитах, синтезируемых грибами рода *Penicillium*, выделенных из различных биотопов многолетнемерзлых отложений Арктики и Антарктики. Показано, что штаммы грибов, находившиеся в условиях вечной мерзлоты обладают высоким биосинтетическим потенциалом. Они продуцируют вторичные метаболиты различных структурных групп: клавиновые эргоалкалоиды, дикетопиперазиновые, хинолиновые, хиназолиновые, бензadiaзепиновые алкалоиды и поликетиды. По биологической активности эти соединения в большинстве случаев относят к микотоксинам. Установлено, что профили вторичных метаболитов и фенотипические признаки штаммов из вечной мерзлоты соответствуют видовым признакам, известным для видов, выделенных из современных местообитаний. Эти результаты имеют важное значение в условиях глобального потепления.

**Л**аборатория создана на базе лаборатории окислительного обмена веществ. В составе лаборатории: 3 научных сотрудника, 4 лаборанта-исследователя, 2 аспиранта.

#### Основные направления исследований:

Основным направлением работы лаборатории является исследование физиолого-биохимических особенностей дрожжей *Yarrowia lipolytica*.

В настоящее время лаборатория проводит исследования по следующим темам:

- Разработка новых процессов получения органических кислот;
- Структура и функции надмолекулярных комплексов ЦТК;
- Создание новых фармпрепаратов на основе органических кислот для использования в спорте высших достижений.

#### Основные результаты:

Впервые установлены пути метаболизма триглицеридов растительных масел у дрожжей *Y. lipolytica*. Фермент, осуществляющий гидролиз масел до глицерина и жирных кислот, - внеклеточная липаза выделена, очищена и охарактеризована. Продукты гидролиза – глицерин и жирные кислоты потребляются клетками одновременно. Глицерин не подавляет потребления и катаболизма жирных кислот, что подтверждено физиологическими данными и анализом уровня активности ферментов катаболизма глицерина и глиоксилатного цикла.

Метод получения пировиноградной кислоты из глицерина биохимически охарактеризован. Сведения о механизмах регуляции ферментов биосинтеза пировиноградной кислоты у *Y. lipolytica* необходимы для практического получения продукта.

Биосинтез лимонной кислоты у дрожжей *Y. lipolytica* на разных субстратах охарактеризован биохимически. Изучена роль двух ключевых ферментов - цитратсинтазы и НАД-зависимой изоцитратдегидрогеназы. Оба фермента выделены из клеток продуцента, очищены и охарактеризованы. Исследованы механизмы регуляции этих ферментов интермедиатами ЦТК. Показано, что свойства цитратсинтазы в условиях *in vitro* и *in situ* существенно различаются; фермент *in situ* оказался более устойчивым к ингибирующему воздействию цитрата и АТФ.

Установлены новые принципы метаболической организации дрожжей. Между ферментами существуют фермент-ферментные взаимодействия. Такие взаимодействия выявлены между двумя последовательными ферментами ЦТК - цитратсинтазой и малат-дегидрогеназой. Фермент-ферментный комплекс образует электростатический субстратный канал для оксалоацетата. На примере пероксисомальной цитратсинтазы впервые показана важность третичной структуры фермента для его функционирования в составе метаболона. Ферменты ЦТК способны связываться как между собой, так и с внутренней мембраной митохондрий, образуя надмолекулярные комплексы (метаболоны).



Заведующий – доктор биологических наук Игорь Григорьевич Моргунов



Созданы научные основы для разработки микробиологических способов получения лимонной кислоты из растительных субстратов. Процессы получения лимонной кислоты из рапсового масла и глицерина были воспроизведены в полупромышленном масштабе на Опытно-технологической установке ИБФМ РАН. Разработан лабораторный технологический регламент «Производство пищевой лимонной кислоты из рапсового масла».

Впервые установлена принципиальная возможность направленного синтеза янтарной кислоты дрожжевыми организмами.

Разработаны физиолого-биохимические основы регуляции сверхсинтеза янтарной кислоты у дрожжей, изучен механизм этого процесса. Предложен способ получения янтарной кислоты с использованием дрожжей *Y. lipolytica*; предложены приемы аналитического выделения продукта и охарактеризована его биологическая активность в сравнении с коммерческими препаратами, получаемыми химическим синтезом.

Созданы научные основы конверсии глицерин-содержащих отходов производства биодизельного топлива в продукты микробиологического синтеза – лимонную кислоту, изолимонную кислоту,  $\alpha$ -кетоглутаровую кислоту.

Совместно с «ВНИИГенетика» получены рекомбинантные штаммы – продуценты органических кислот, у которых за счет увеличенной экспрессии изоцитратлиазы и аконитат-гидратазы значительно повышен выход трео-Ds-изолимонной и  $\alpha$ -кетоглутаровой кислот за счет снижения содержания побочных продуктов.

Разработаны и проведены доклинические испытания новых лекарственных адаптогенных препаратов на основе природных соединений дикарбоновых кислот (совместно с ФМБА России).

**Научные связи:** Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, «ГосНИИГенетика», Научно-исследовательский центр токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов Федерального-медикобиологического агентства России, Российский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию, Пущинский государственный естественно-научный институт, Башкирский государственный университет, РГП Институт микробиологии и вирусологии, Казахстан, Вроцлавский университет природообустройства (г. Вроцлав, Польша), Институт биотехнологии (г. Авгии-Салонии, Греция), Научно-исследовательский центр по изучению окружающей среды им. Гельмгольца (г. Лейпциг, Германия)

За последние 5 лет опубликовано 26 статей с совокупным импакт фактором 52.



**И**сследования физиологии микроорганизмов представляют область, объединяющую изучение ряда различных биологических проблем. В составе лаборатории 2 доктора наук, 2 кандидата наук, 1 инженер, 2 лаборанта.

### **Основные направления исследований**

До 2004 г. деятельность лаборатории была направлена на решение важных проблем биотехнологии, связанных с культивированием микроорганизмов. Основным направлением фундаментальных исследований лаборатории являлось выявление общих закономерностей баланса и кинетики микробного роста. В ходе исследований разработана теория материально-энергетического баланса роста микроорганизмов, послужившая основой для создания автоматизированных непрерывных процессов крупнотоннажного производства микробной биомассы и продуктов метаболизма.



*Заведующий – доктор биологических наук, профессор Михаил Борисович Вайнштейн*

### **Основные результаты:**

- Разработан новый способ непрерывного культивирования - бистат, позволяющий, в частности, культивировать в промежуточном диапазоне условий роста, недоступном для хемостата и рН-ауксостата;
- На основе теории материально-энергетического баланса клеточного метаболизма найдены верхние пределы значений выхода биомассы микроорганизмов и ряда продуктов метаболизма из углеводов и низших спиртов, а также выявлен механизм влияния затрат энергии для поддержания клеток на скорость роста микроорганизмов;
- Выявлены контуры зоны двойного лимитирования органическим и минеральным субстратами при росте дрожжей, открыта зависимость скорости расхода энергии на поддержание клеток от концентраций субстратов;
- Показана возможность регуляции интенсивности и направленности биосинтетических процессов у микроорганизмов избыточными концентрациями минеральных компонентов в среде или путем замены ионов металлов, входящих в ферменты;
- Разработаны основы микробиологического синтеза физиологически активных полиненасыщенных жирных кислот, играющих роль незаменимых компонентов питания, биостимуляторов; предложены направления практического использования арахидоновой кислоты в качестве стимулятора иммунитета растений и их устойчивости к температурным стрессам;
- В сотрудничестве с другими подразделениям института разработаны процессы получения кормовых микроорганизмов на метиловом спирте, кормовых и пищевых дрожжей на синтетическом этиловом спирте, физиологически активных соединений (арахидоновой кислоты, рибофлавина, цитохрома С), а также препарата для иммунизации растений - иммунофита.



### Основные темы последних лет

- Физиологические закономерности взаимодействия микроорганизмов с ионами токсичных металлов и хелатообразующими соединениями;
- Исследование физиологических закономерностей микробной конверсии органических и неорганических соединений.
- Физиологические основы регуляции синтеза биологически активных соединений у микроорганизмов;

- Изучение стехиометрии биохимических путей и особенностей воздействия факторов среды на физиологические характеристики роста и синтеза продуктов у микроорганизмов, перспективных для биотехнологии.

### Основные результаты по темам последних лет

- Выделены два новых штамма ЭДТА-разрушающих бактерий, в том числе штамм LPM-4, облигатно нуждающийся в ЭДТА для роста клеток. По сравнению с известными ЭДТА-деградирующими бактериями новые штаммы характеризуются более высокими значениями эффективности процесса;
- Для хромат-восстанавливающих бактерий *Staphylococcus epidermidis* L-02 показано альтернативное восстановление хромата и нитрата при их одновременном присутствии в среде;
- Теория материально-энергетического баланса обобщена для фототрофного роста организмов с одной и двумя фотосистемами; установлены количественные взаимосвязи между биоэнергетическими параметрами клеточного метаболизма и физиологическими характеристиками роста, найдены верхние пределы значений выхода биомассы организмов с различными типами метаболизма
- На основе теории материально-энергетического баланса и экспериментальных данных, установлена универсальная количественная зависимость энергосодержания биомассы от доли липидов в ней, выявлены биологические константы, связанные с составом липидов и безлипидной фракции биомассы;
- Селеционированы штаммы *Mortierella alpina*, продуценты арахидоновой кислоты (АК); разработано получение АК при использовании и глицерин-содержащих отходов производства биодизеля в качестве субстратов; выявлены факторы, определяющие высокий выход АК (40-43% от липидов; 11-13% от биомассы); предложен прием увеличения доли АК в липидах до 57-61%;
- Показана возможность участия умеренно ацидофильных тионовых бактерий в выщелачивании металлов из минералов сырья; показано, что автотрофные тионовые бактерии стимулируются формиадом.

**Л**аборатория биосинтеза ферментов была создана в 1998 г. на базе группы, работающей по изучению биосинтеза целлюлаз и других полисахараз мицелиальными грибами и входящей в состав лаборатории физиологии роста микробных культур, возглавляемой доктором биологических наук профессором Е.Л. Головлевым.

### Цели исследований и разработок:

Создание эффективных биотехнологий для крупномасштабного производства ферментных препаратов целлюлаз, ксиланаз, пектиназ и других карбогидраз, применяемых для:

- биоконверсии растительного целлюлозосодержащего сырья,
- повышения эффективности производства бумаги,
- повышения эффективности кормов в сельском хозяйстве,
- обработки тканей в текстильной промышленности,
- производства моющих средств.



Заведующий – кандидат  
медицинских наук Олег  
Николаевич Окунев

**Объектами исследований лаборатории** являются грибы-микромикеты (*Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* и др.) – продуценты ферментных комплексов целлюлаз и гемицеллюлаз, и других карбогидраз, участвующих в процессах биодegradации целлюлозы, гемицеллюлозы и других природных полимеров с образованием простых сахаров, которые затем могут быть конвертированы в различные полезные продукты.

### Основные направления

1. Поиск новых природных штаммов продуцентов среди природных мицелиальных грибов и актиномицетов, выделенных из экстремальных мест обитания и синтезирующих карбогидразы с перспективными ферментативными характеристиками.
2. Генетическая селекция мутантных штаммов *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium* сверх-продуцентов,
  - а) синтезирующих повышенные количества целлюлаз, ксиланаз, пектиназ и др. ферментов
  - б) устойчивых к катаболитной репрессии, что делает возможным получение культур высокой плотности с высокими концентрациями целевых ферментов. Главным достижением являются полученные сверхпродуценты на основе штаммов *Penicillium verruculosum.*, *Aspergillus japonicus* и *Aspergillus heteromorphus* и других грибных штаммов, синтезирующих пяти–десятикратно повышенные количества целевых ферментов.
3. Конструирование и создание исследовательской ферментационной установки из восьми независимых ферментеров, управляемых с помощью компьютера и применяемых для разработки эффективных режимов культивирования .



*Ферментационный комплекс КФ-108*

В настоящее время совместно с лабораторией физико-химии ферментативной трансформации полимеров Химического факультета МГУ и лабораторией биотехнологии ферментов института биохимии им. А.Н. Баха в лаборатории биосинтеза ферментов активно ведется работа по созданию новых штаммов – суперпродуцентов целлюлазных ферментных комплексов с помощью современных методов геной инженерии и сайт-направленного мутагенеза. Существенным достижением лаборатории является создание достаточно большой коллекции мутантных и рекомбинантных штаммов-продуцентов, у которых многократно увеличен уровень синтеза целевых ферментов по сравнению с исходными штаммами, разработаны протоколы культивирования, а также лабораторные регламенты получения ферментных препаратов на их основе.

Результаты, полученные коллективом лаборатории биосинтеза ферментов, защищены патентами РФ, были представлены на многочисленных Российских и международных конференциях, а также

### **Участие в научных программах, гранты**

Участие в Государственных программах "Новейшие методы биоинженерии" и "Исследования и разработки по приоритетным направлениям науки и техники" (с 1972 г.).

Государственный контракт № 02.467.11.3007 (Проект ЖС-КП 4/001 Лот - 17) на период 2005-2006 гг.

Государственный контракт от 01 марта 2011г. №16.512.11.2149 в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2013 годы» по теме: «Создание эффективных ферментных препаратов для использования в качестве кормовых добавок».

Центр экспериментальной биотехнологии создан в 1993 г. в результате изменения штатного расписания Института на базе Опытной технологической установки, функционирующей с 1975 г. (ОТУ ИБФМ РАН). Научно-вспомогательное подразделение, зарегистрировано как Уникальная научная установка Минобрнауки России.

## **ОТУ включает в себя:**

- Участок биосинтеза, оснащенный ферментационными установками объемом от 10 до 2000 л,
- Участок предварительной очистки препаратов, оснащенный оборудованием для отделения клеток от культуральной жидкости: набором сепараторов, ультрацентрифуг, установками для мембранной фильтрации,
- Участок заключительной химической очистки, оснащенный экстракторами, вакуумвыпарными и ультрафильтрационными установками, ионообменными колонками и другим оборудованием, позволяющим получать опытные партии широкого класса наукоемких биопрепаратов на основе микробиологического синтеза.



*Заведующий - кандидат биологических наук  
Владимир Александрович  
Самойленко*

## **Основные направления исследований и наиболее важные достижения**

Масштабирование лабораторных разработок с целью создания экономически перспективных и экологически безопасных опытно-промышленных технологических регламентов производства продуктов микробного синтеза следующих направлений:

- Микробиологический синтез органических кислот с помощью дрожжей на различных углеродных субстратах.
- Разработка бактериальных и ферментных препаратов для улучшения качества и интенсификации технологических процессов изготовления пищевых продуктов.
- Разработка бактериальных препаратов для микробиологической деградации чужеродных соединений, а также очистки окружающей среды от нефти и нефтепродуктов.
- Разработка процессов биосинтеза биологически активных соединений для нужд сельского хозяйства.
- Разработка процессов биосинтеза, выделения и очистки ферментов, белков, физиологически активных пептидов и вторичных метаболитов с помощью рекомбинантных продуцентов.

## **Основные разработки за последние 8 лет**

Совместно с ООО «Современные биотехнологии» была разработана технология биосинтеза, выделения и очистки белка CAT-COM, перспективного продукта для интенсификации процессов животноводства.



Постановлением Правительства Российской Федерации от 10 марта 2009 г. N 221 г. Москва "О присуждении премий Правительства РФ 2008 года в области науки и техники"- за разработку научных основ и внедрение ресурсосберегающей технологии повышения рентабельности мясного и молочного животноводства, бройлерного птицеводства коллективу разработчиков присуждена премия Правительства РФ.

В рамках Государственного контракта 9411.0810200.13.В15 от 6 ноября 2009 года на проведение работ по теме "Создание и масштабирование технологии биосинтеза и очистки рекомбинантных белков ВМР-2 и ВМР-7, используемых в препаратах для ускоренной регенерации костной ткани" была разработана технология биосинтеза рекомбинантных белков ВМР-2 и ВМР-7, методики их выделения и очистки.

По программе «Разработка и проведение доклинических испытаний новых лекарственных адаптогенных препаратов на основе природных соединений дикарбоновых кислот» (заказчик ФМБА России) проведена наработка опытных партий препаратов изолимонной, кетоглутаровой и янтарной кислот фармакопейной чистоты и проведены исследования их физиологической активности.

Доклинические испытания изолимонной кислоты показали, что она способствовала повышению общей физической выносливости у экспериментальных животных, а также обладала антигипоксическим и гепатопротекторным эффектом.

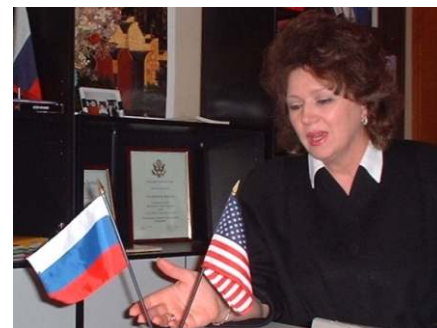
Совместно с лабораторией биологии плазмид разработан препарат «МикроБак», предназначенный для биодegradации нефти и нефтепродуктов при загрязнении ими почв, естественных водоемов, акваторий, сточных вод предприятий, внутренних поверхностей нефтеналивных резервуаров.

Получен патент №2378060 «Биопрепарат для очистки почв от загрязнений нефтью и нефтепродуктами, способ его получения и применения». Зарегистрирован торговый знак «МикроБак» № 2008703757.

В рамках Госконтракта № 14.512.11.0045 от 03 апреля 2013 г. была проведена селекция активных продуцентов  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты и изолимонной кислоты среди природных штаммов *Y. Lipolytica*, получены мутантные штаммы, а также сконструированы рекомбинантные штаммы – продуценты.

В рамках Государственного контракта № 14411.2049999.19.080 от 24 сентября 2014 г. на выполнение НИОКР по теме: «Доклинические исследования лекарственного средства на основе пробиотических штаммов лактобацилл репродуктивного тракта женщин с установленными последовательностями геномов для лечения урогенитальных инфекционных заболеваний» разработан проект технологического регламента на производство препарата «Вагинормин-1».

Деятельность сотрудников Сектора включает выполнение формальных задач и осуществление инициативных проектов. В обязанности сотрудников входит участие в подготовке международных договоров и проектов, их регистрация и учет; организация визовой поддержки для иностранных гостей ИБФМ, включая подготовку программ визитов и решение организационных вопросов; подготовка документов при командировании сотрудников ИБФМ за рубеж; подготовка различных отчетов и прочей документации по требованию вышестоящих организаций; перевод деловой переписки, деловых бесед, международных договоров и контрактов и т.п. на английский/русский языки; организация экспортного контроля, и т.д.



*Заведующая - Вера  
Алексеевна Дмитриева*

Инициативная деятельность сотрудников СМС предоставляет сотрудникам ИБФМ РАН возможность значительно расширить свое участие в международных проектах, международных конференциях и других мероприятиях организуемых СМС. **По инициативе сотрудников Сектора международного сотрудничества (СМС) были получены гранты и реализованы следующие международные проекты:**

- Проект RBO-10307-PU-01/RBO-10305-PU-01 Создание центра «Биоресурсы и экология» для изучения российского микробного разнообразия
- Проект RBO-1290-PU-02 Поиск биологически активных молекул для защиты сельскохозяйственных растений
- Проект RUB2-10619-МО-04 Поиск новых, перспективных для биотехнологии микроорганизмов
- Проект RBO-1430-PU-03 Совместное изучение микробного разнообразия
- Проект RBO-10118-МО-03 Оптимизация процесса биоремедиации почвы, загрязненной нефтепродуктами, с использованием интегрированной системы микроорганизмов и растений
- Проект МНТЦ 4033р Микроорганизмы, выделенные из территорий и водных резервуаров, загрязненных углеводородами, для целей повышения нефтеотдачи пластов.
- Проект МНТЦ 4028р Определение запасов углерода и степени загрязнения почв северных широт: оценка потенциального высвобождения углерода в результате глобального потепления
- Проект RUX2-20414-PU-04 Организация бизнес структуры для коммерциализации в области биоинженерии и биотехнологии
- Проект SB72WS08-2004 Создание образовательного курса для работников биотехнологических производств
- Проект RUX-8063-PU-12 Международная программа дистанционного обучения по биобезопасности



### Международные конференции и семинары, организованные сотрудниками Сектора международного сотрудничества ИБФМ РАН

2004 - Наука и бизнес: Поиск и использование новых биомолекул: биоразнообразие, окружающая среда, биомедицина

2005 - Наука и бизнес: Биотехнология – Биомедицина - Окружающая среда

2006 - “Международное сотрудничество в области биотехнологии: ожидания и реальность”

2006 - Российско-Японский семинар-презентация

2007 - «Нанобио- и другие новые и перспективные биотехнологии»

2008 - «Наука и образование для целей биобезопасности»

2011 - Международная конференция «Человек и окружающая среда: друзья или враги?»

2013 – Международная школа по биобезопасности

Участие сотрудников Сектора международного сотрудничества в международных симпозиумах и выставках

1996 *Int. Conference on Chemical Weapons Destruction in Russia*, Germany, Bonn,

1997, *Int. Congress Nature for East and West*, Basel, Switzerland

2000 *The International Visitor Program “Environmental Legislation and Sustainable Development”*, USA

2001 *The Sam Nunn Bank of America Policy Forum*, “*Russian Scientific talents: Economic Opportunities and Challenges* Atlanta, USA.

2003 *International Applied Phytotechnologies Conference*, Chicago, USA

2003 *Bio 2003*, США, Вашингтон

2004 *Bio 2004*, США, Сан-Франциско

2004 *International Conference “New Europe 2020- Visions and Strategies for Wider Europe*, Turku, Finland

2005 *Innovation Forum , Biotechnica 2005*, Hanover, Germany

2006 2<sup>nd</sup> *Russian-Italian Conference on Innovation-Technological and Industrial Cooperation*, Padua, Italy

2006 *Bio-2006*, США, Чикаго

2007 *Nanobio 2007* Japan

2009 *International Conference “Perspectives of Russian-UK Cooperation in High Technologies”*, Oxford, UK

2010 -14 *Международный симпозиум по биотехнологии Римини*, Италия